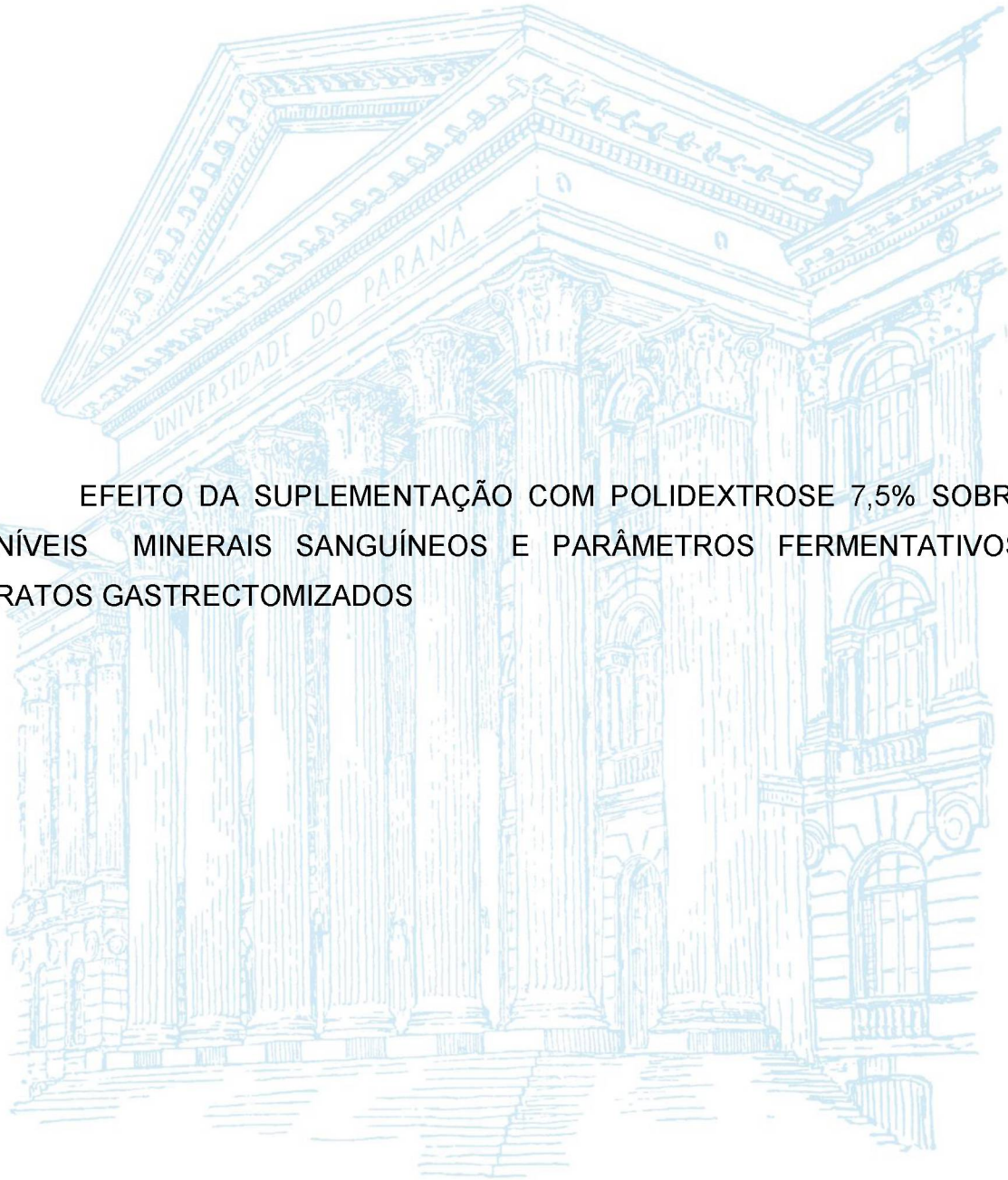


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SILVANA FRANCO



EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM POLIDEXTROSE 7,5% SOBRE OS
NÍVEIS MINERAIS SANGUÍNEOS E PARÂMETROS FERMENTATIVOS EM
RATOS GASTRECTOMIZADOS

CURITIBA

2018

SILVANA FRANCO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM POLIDEXTROSE 7,5% SOBRE OS
NÍVEIS DE MINERAIS SANGUÍNEOS E PARÂMETROS FERMENTATIVOS EM
RATOS GASTRECTOMIZADOS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação
em Medicina Interna, Setor de Ciências Saúde,
Universidade Federal do Paraná, como
requisito parcial à obtenção do Título de Doutor
em Medicina Interna e Ciências da Saúde

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Mara Cesário
Pereira Maluf

Coorientadora: Profa. Dra. Daiana Novello

CURITIBA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE
BIBLIOTECAS/UFPR BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE,
BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA JORDÃO CRB 9/991 COM OS
DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

F825 Franco, Silvana.

Efeito da suplementação com polidextrose 7,5% sobre os níveis minerais sanguíneos e parâmetros fermentativos em ratos wistar gastrectomizados. / Silvana Franco. – Curitiba, 2018.
F 70.: il.; tabs.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eliane Mara Cesário Pereira Maluf Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Gastrectomia. 2. Alimento funcional. 3. Prebióticos. 5. Ratos Wistar. I. Maluf, Eliane Mara Cesário Pereira. II. Programa de Pós- Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

NLMC: QU 145

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA INTERNA

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **SILVANA FRANCO** intitulada: **"EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM POLIDEXTROSE 7,5% SOBRE OS NÍVEIS DE MINERAIS SANGÜÍNEOS E PARÂMETROS FERMENTATIVOS EM RATOS GASTRECTOMIZADOS"**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Maio de 2018.


ELIANE MARA CESÁRIO PEREIRA MALUF
Presidente da Banca Examinadora


RODRIGO ALBERTO PEREIRA GOMES
Avaliador Externo


VICTÓRIA ZEGHBI COCHENSKI BORBA
Avaliador Interno


MARIANA ABE VICENTE
Avaliador Externo


ANGÉLICA ROCHA DE FREITAS MELHEM
Avaliador Externo

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado forças e sabedoria.

À minha família por toda base e acolhimento com incrível amabilidade e presteza.

À Professora Doutora Eliane Cesário Maluf, orientadora deste trabalho, por seu apoio, amizade, acompanhamento em todas as etapas sempre me auxiliando com suas considerações, experiência na pesquisa científica e serenidade como conduziu esta orientação.

À Professora Doutora Daiana Novello, coordenadora do Projeto precursor a este trabalho, minha querida amiga, incentivadora e sempre inspiração como pesquisadora.

Ao Departamento de Nutrição da Universidade Estadual do Centro-Oeste – Unicentro, Guarapuava, PR, pelo apoio, incentivo e parceria com a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS na viabilização e execução do experimento.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, Universidade Federal do Paraná, por constantemente incentivar os pós-graduandos frente à pesquisa científica.

Aos bons e verdadeiros amigos que permaneceram nesta caminhada ao meu lado, cada lembrança nossa será singular. Sem vocês, esses anos de estudo seriam mais solitários e difíceis. Obrigada!

Sou grata infinitamente por não ter medo de mais nada e saber que todos somos capazes de conseguir!

“Se eu consigo, você consegue”. Obrigada!

RESUMO

O tratamento cirúrgico é a principal alternativa terapêutica em diagnósticos adenocarcinomas gástricos, doenças ulcerosas gástricas avançadas e obesidade mórbida. Algumas alterações nas funções do estômago levam a danos na digestão com prejuízos na absorção intestinal de nutrientes. Estudos apontam que, após terapia de ressecção gástrica parcial ocorre diminuição na absorção de cálcio. Os prebióticos podem atuar como coadjuvantes na melhoria da biodisponibilidade do cálcio por meio da dieta, aumentando a absorção no cólon proximal, com envolvimento dos ácidos graxos de cadeia curta, com espessamento e aumento do peso da parede do ceco da redução do pH do conteúdo do mesmo órgão. Faz-se necessário manter um suprimento constante de cálcio biodisponível, pois a taxa de absorção oscila entre 30 a 50% e as ressecções gástricas são conhecidas por causar desordens gástricas relacionadas com a capacidade comprometida para a utilização de cálcio na dieta. Neste estudo, o objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação com polidextrose nos níveis séricos de minerais e parâmetros fermentativos no conteúdo cecal em ratos wistar gastrectomizados. Ratos Wistar machos (n = 40) com aproximadamente 250 g foram submetidos à cirurgia de gastrectomia a Billroth II com vagotomia troncular anterior, sendo distribuídos em dois grupos: gastrectomizados (GXT) e falso gastrectomizados (SHAM). Após sete dias de pós-operatório foram subdivididos em quatro grupos: Sham Controle (Sham sem polidextrose); Sham PDX (Sham com polidextrose); GXT Controle (Gastrectomizados sem polidextrose); GXT PDX (Gastrectomizados com polidextrose). O ganho de peso e o consumo de dieta foram avaliados semanalmente. A coleta de fezes foi realizada durante o experimento. Os animais foram eutanasiados após 60 dias de experimento e o sangue, ossos e ceco foram removidos neste momento. Os animais do grupo SHAM controle tiveram maior ganho de peso em comparação aos outros grupos ($p < 0,05$). Houve um menor consumo de ração nos animais do grupo GXT PDX ($p < 0,05$). A PDX manteve os níveis séricos de cálcio (cálcio, fósforo) nos grupos suplementados com o prebiótico. Com relação à fosfatase o grupo GXT PDX apresentou maiores médias, influenciando positivamente no processo de mineralização óssea. A gastrectomia não gerou comprometimento ósseo nos grupos estudados GXT Controle e GXT PDX e não houve diferença com os grupos SHAM Controle e SHAM PDX. A PDX gerou alterações no ceco dos animais suplementados, onde houve redução do pH, aumento do peso, mas não gerou aumento de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no GTX PDX. Pode-se concluir que a PDX interfere positivamente na manutenção dos níveis séricos de cálcio e fósforo e que se mostra envolvida no processo de fermentação no intestino grosso.

Palavras-chave: Cálcio, Gastrectomia, Alimentos funcionais, Prebióticos, Ratos wistar.

ABSTRACT

Surgical treatment is the main therapeutic alternative in the diagnosis of gastric adenocarcinomas, advanced gastric ulcer diseases and morbid obesity. Some changes in the functions of the stomach lead to damage in the digestion with losses in the intestinal absorption of nutrients. Studies indicate that, following partial gastric resection therapy, there is a decrease in the absorption of calcium. Prebiotics can act as adjuvants in improving calcium bioavailability through diet, increasing absorption in the proximal colon, with involvement of short chain fatty acids, with thickening and increase of weight of the cecum wall of the reduction of pH of the contents of the same organ. It is necessary to maintain a constant supply of bioavailable calcium because the absorption rate ranges from 30 to 50% and gastric resections are known to cause gastric disorders related to the ability to use calcium in the diet. In this study, the objective was to evaluate the effects of supplementation with polydextrose on blood mineral levels and fermentative parameters on cecal content in gastrectomized wistar rats. Male Wistar rats (n = 40) with approximately 250 g underwent gastrectomy surgery to Billroth II with anterior truncal vagotomy, being distributed in two groups: gastrectomized (GXT) and false gastrectomized (SHAM). After seven postoperative days were subdivided into four groups: Sham Control (Sham without polydextrose); Sham PDX (Sham with polydextrose); GXT Control (Gastrectomized without polydextrose); GXT PDX (Gastrectomized with polydextrose). Weight gain and diet intake were evaluated weekly. Stool collection was performed during the experiment. The animals were euthanized after 60 days of experiment and the blood, bones and cecum were removed at this time. The animals in the SHAM control group had greater weight gain in comparison to the other groups ($p < 0.05$). There was lower feed intake in the animals of the GXT PDX group ($p < 0.05$). PDX maintained serum calcium levels (calcium, phosphorus) in the groups supplemented with the prebiotic. Regarding phosphatase, the GXT PDX group presented higher averages, positively influencing the process of bone mineralization. The gastrectomy did not generate bone involvement in the studied groups GXT Control and GXT PDX and there was no difference with the groups SHAM Control and SHAM PDX. PDX generated changes in the cecum of the supplemented animals, where there was a reduction in pH, weight gain, but did not generate short chain fatty acid (AGCC) increase in GTX PDX. It can be concluded that PDX interferes positively in the maintenance of serum levels of calcium and phosphorus and that is involved in the fermentation process in the large intestine.

Key words: Calcium, Gastrectomy, Functional foods, Prebiotics, rats wistar.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gastrectomias	17
Figura 2 – Metabolismo e regulação da homeostasia de cálcio	19
Figura 3 – Reações dos alimentos funcionais com a microbiota intestinal e seus efeitos com a saúde	25
Figura 4 – Estrutura molecular da polidextrose	26
Figura 5 – Delineamento experimental.....	30
Figura 6 – Identificação do estômago do animal e da sua vascularização na pequena e grande curvatura.....	66
Figura 7 – Colocação de pinças Kelly reta sobre o piloro e o estômago, para isolamento da parte a ser retirada.....	66
Figura 8 – Ressecção da área correspondente ao antro do animal, completando assim a gastrectomia	66
Figura 9 – Fechamento do coto duodenal	67
Figura 10 – Identificação da primeira alça intestinal a cerca de 5 cm do ligamento de treitz e abertura da alça, de cerca de 1 cm de extensão, no bordo contramesenterial, com auxílio de tesoura	67
Figura 11 – Gastroenteroanastomose término-lateral (estômago/jejuno)	67
Figura 12 – Realizada a gastroenteroanastomose término-lateral no sentido isoperistáltico da alça intestinal, utilizando fio de prolipropileno nº 4.0, com sutura contínua e pontos extramucosos.....	68
Figura 13 – Fechamento da parede abdominal utilizando sutura contínua e fio de algodão com poliéster 3.0 e em seguida fechamento da pele com pontos intradérmicos com este mesmo fio.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais (g/kg) de acordo com a AIN-93 M (Reeves <i>et al.</i> , 1993)	34
Tabela 2 – Composição centesimal e valor calórico das dietas experimentais / Campo Grande (MS), 2016	34
Tabela 3 – Descrição e comparação da composição centesimal e do conteúdo de minerais da dieta fornecida aos animais durante 8 (oito) semanas de estudo.....	42
Tabela 4 – Descrição e comparação do ganho de peso entre os grupos de animais do estudo.....	43
Tabela 5 – Descrição e comparação do consumo médio de dieta fornecida entre os grupos de animais do estudo	44
Tabela 6 – Descrição e comparação de parâmetros bioquímicos séricos entre os grupos de estudo.....	45
Tabela 7 – Descrição e comparação da concentração dos teores de cálcio e fósforo ósseo entre os grupos de estudo.....	46
Tabela 8 – Descrição e comparação de parâmetros cecais analisados entre os grupos de estudo.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

–	Menos
®	Marca registrada
~	Aproximadamente
°C	Graus Celsius
µg	Microgramas
µL	Microlitros
<i>Ad libitum</i>	À vontade
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ATP	Adenosina trifosfato
BI	Billroth I
BII	Billroth II
Ca	Cálcio
Ca ⁺²	Cálcio absorvível
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CGP	Câncer gástrico precoce
Cm	Centímetros
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CO ₂	Gás carbônico
col.	Colaboradores
DMO	Densidade mineral óssea
DP	Desvio-padrão
<i>et al.</i>	E outros
FAO	Fosfatase alcalina óssea
FAT	Fosfatase alcalina total
Fe	Ferro
FOSHU	<i>Foods for specified health use</i>
G	Gramas
GXT	Gastrectomizado
H	Horas
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
H ₂	Hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
IMC	Índice de massa corporal
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Kcal	Quilocalorias
L	Litros
mg	Miligramas
Mg	Magnésio

min.	Minutos
Mmol	Milimol
N	Número amostral
N ₂	Nitrogênio
Nº	Número
OC	Osteocalcina
P	Nível de significância estatística
PDX	Polidextrose
Ph	Concentração hidrogeniônica
PICP	Peptídeo carboxiterminal do procolágeno tipo I
PPP	Programa Primeiros Projetos
PTH	Paratormônio
SHAM	Falso gastrectomizado
SPF	Livres de patógenos específicos
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro-Oeste

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	GASTRECTOMIAS	15
2.2	METABOLISMO E REGULAÇÃO DA HOMEOSTASIA DE CÁLCIO (CA).....	17
2.3	REMODELAÇÃO ÓSSEA.....	20
2.4	MARCADORES DO METABOLISMO DE CÁLCIO.....	21
2.5	DEFICIÊNCIA DE MINERAIS NA GASTRECTOMIA.....	21
2.6	ALIMENTOS FUNCIONAIS E PREBIÓTICOS.....	22
2.7	POLIDEXTROSE (PDX).....	25
3.	OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1.	ENSAIO BIOLÓGICO.....	29
4.1.1	ANIMAIS PARA EXPERIMENTAÇÃO.....	29
4.1.2	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	29
4.1.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	30
4.2.1	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO: GASTRECTOMIA A BILLROTH II COM VAGOTOMIA TRONCULAR ANTERIOR.....	31
4.2.2	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO SHAM	32
4.2.3	MATERIAIS	32
4.2.4	CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS	33
4.3	DIETAS EXPERIMENTAIS	33
4.3.1	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS DIETAS.....	34
4.3.2	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS DIETAS FORMULADAS	35
4.3.3	ACOMPANHAMENTO DA INGESTÃO HÍDRICA DOS ANIMAIS.....	36
4.3.4	ACOMPANHAMENTO DO CONSUMO DE DIETA E GANHO DE PESO DOS ANIMAIS.....	36
4.3.5	SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA B ₁₂ (CIANOCOBALAMINA)	37
4.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	37
4.4.1	PREPARO DO MATERIAL PARA LEITURA DAS AMOSTRAS	37

4.4.2 AMOSTRAS ESPECÍFICAS.....	37
4.4.2.1 CÁLCIO DA DIETA.....	38
4.4.2.2 CÁLCIO FECAL	38
4.5 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE PARA DOSAGENS SÉRICAS	38
4.5.1 CÁLCIO, FÓSFORO, FOSFATASE ALCALINA, PROTEÍNAS TOTAIS E FRAÇÕES.....	38
4.5.2 OSTEOCALCINA	39
4.6 COLETA DO CONTEÚDO CECAL DOS ANIMAIS.....	39
4.6.1 QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS NO CONTEÚDO CECAL.....	39
4.7 DETERMINAÇÕES ÓSSEAS	40
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5 RESULTADOS.....	42
5.1 AVALIAÇÃO DA DIETA.....	42
5.2 AVALIAÇÃO DO PESO.....	42
5.2.1 COMPARAÇÃO DO GANHO DE PESO ENTRE OS GRUPOS	42
5.3 COMPARAÇÃO DO CONSUMO DE DIETA.....	43
5.4 COMPARAÇÃO ENTRE MARCADORES BIOQUÍMICOS SÉRICOS	44
5.5 COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS TEORES DE CÁLCIO E FÓSFORO ÓSSEO.....	45
5.6 COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS CECALIS	46
6 DISCUSSÃO	48
7 CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	58
ANEXO II INCLUSÃO AO PROJETO APROVADO ORIGINAL APROVADO PELA FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA	70

1. INTRODUÇÃO

As gastrectomias parciais ou totais são as principais formas de tratamento para o câncer gástrico e estão indicadas em praticamente todos os pacientes que estejam aptos a um procedimento cirúrgico não isento de complicações. Apesar da quimioterapia e radioterapia serem reconhecidas com avanços em tratamentos complementares, a ressecção total do tumor em muitos casos, oportuniza a cura nos pacientes acometidos com esse tipo de câncer (TONETO *et al.*, 2012). A cirurgia tem indicação nos casos de doença ulcerosa péptica permitindo a confirmação final do diagnóstico, localização precisa da úlcera, seu tratamento e de suas complicações (WYSOCKI *et al.*, 2011).

Na gastrectomia parcial ou total do estômago o trânsito gastrointestinal é feito por meio de anastomose com o duodeno (Billroth I-BI) ou jejuno (Billroth II-BII). Conforme a localização do tumor a extensão do estômago precisa ser removida. Com a retirada parcial do estômago os tumores de antro são tratados (gastrectomia parcial); os de corpo, fundo e cárdia requerem a retirada completa do órgão, sendo necessária a realização da gastrectomia total (TONETO *et al.*, 2012; XIONG *et al.*; 2013).

Deficiências nutricionais são comuns em pacientes gastrectomizados, pois com a remoção do antro ocorre diminuição na produção de gastrina e redução do estímulo para secreção de pepsina, com prejuízo da digestão de proteínas. Ocorre também redução da secreção de ácido clorídrico (HCl) e do fator intrínseco, com aparecimento de anemia ferropriva e megaloblástica. É comum a ocorrência de alteração no esvaziamento gástrico após a cirurgia refletir em liberação inapropriada dos hormônios intestinais, que propiciam os sintomas gastrointestinais ou vasomotores (plenitude e distensão gástrica, dor abdominal, diarreia, sudorese, taquicardia. Após terapia de ressecção gástrica parcial e total, pode haver prejuízo na absorção de vitamina D e cálcio dietéticos (SANTOS, 2009; HARA *et al.*, 2000; OTHA *et al.*, 1995).

No intestino dos mamíferos o cálcio é absorvido principalmente no intestino delgado, com absorção máxima no duodeno ao longo de duas vias: uma transcelular e outra paracelular, ambos regulados pela vitamina D (BRONNER *et al.* 1986). Contudo, Bouglé *et al.* (2002), em estudos utilizando ratos, verificaram que os ácidos

graxos de cadeia curta, principalmente o propionato parece, aumentar a absorção de cálcio no colón proximal. Este fato sugere que o processo de ingestão de prebióticos com suas propriedades funcionais *in vivo* aumente a biodisponibilidade de cálcio dietético.

A Polidextrose (PDX) é um prebiótico, não digerível, não hidrolisada no intestino delgado superior sendo fermentada parcialmente no intestino grosso, aumentando o volume de massa fecal, reduzindo o tempo de trânsito intestinal, suavizando e diminuindo o pH do bolo fecal. Essa fermentação conduz ao crescimento de microflora favorável, redução da microflora putrefativa, maior produção de ácidos graxos de cadeia curta e a supressão da produção de metabólitos carcinogênicos (por exemplo, o indol e o *p*-cresol) (JIE *et al.*, 2000; GIJS *et al.*, 2013; RÖYTIÖ, 2014).

A ingestão de PDX é relatada na literatura como fator importante para melhoria da concentração de cálcio nos ossos de ratas normais, podendo ser relevante para diminuir o risco de osteoporose (HARA *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2009).

Assim, é possível identificar componentes e/ou ingredientes funcionais dos alimentos que podem influenciar positivamente na absorção de cálcio, a fim de assegurar uma melhor biodisponibilidade (OHTA *et al.*, 1995; SAAD, 2006).

Diante deste contexto e tendo-se em vista a gama de propriedades dos ingredientes funcionais deste prebiótico, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de polidextrose 7,5% nos níveis séricos de minerais e parâmetros fermentativos no conteúdo cecal em ratos gastrectomizados.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Gastrectomias

As gastrectomias consistem na retirada de parte ou de todo o estômago, refazendo o trânsito gastrointestinal através de anastomose com o duodeno (Billroth I – BI) ou jejuno (Billroth II – BII) (FIGURA 1). Com a retirada parcial ou total do estômago há remoção do antro e consequente diminuição na produção de gastrina e redução do estímulo para secreção de pepsina, com prejuízo da digestão de proteínas, principalmente colágeno. Ocorre também diminuição da secreção de ácido clorídrico (HCl) e do fator intrínseco (FELDMAN, 1989; TONETO *et al.*, 2012; XIONG *et al.*; 2013). Alterações nas funções do estômago levam danos à digestão, prejudicando a absorção de nutrientes no intestino delgado (FELDMAN, 1989; PAPINI-BERTO; BURINI, 2001), desta forma toda a função digestiva do estômago e absorptiva do duodeno ficam prejudicadas na gastrectomia (LETH, 1991; PAPINI-BERTO, 2001; SANTOS *et al.*, 2011a).

Anorexia, diarreia, síndrome de dumping, perda de peso, anemia e desnutrição protéico-energética são sinais e sintomas relacionados ao estado nutricional mais comumente observados nos pacientes submetidos a gastrectomia (PAPINI-BERTO, 2001, BORDALO., *et al.* 2011), sendo que Koga *et al.* (1979) apontaram que esse tipo de cirurgia é conhecido por causar desordens ósseas (osteoporose/osteomalacia) (KOGA, 1979; NILAS, 1985), possivelmente relacionadas com a capacidade comprometida para a utilização de cálcio na dieta (AXELSON, 1991). A hipocloridria após ressecção gástrica pode prejudicar a absorção de cálcio insolúvel, pois o ácido é o fator mais importante para a solubilização de sais de cálcio insolúvel (HARA, 2000; KAMIJI, 2003; PRISCO, 2005; SANTOS, 2011b). Essa diminuição do conteúdo mineral como consequência da gastrectomia parcial ou total, tem sido relatada por vários autores (KANG *et al.* 2007; REBOLLEDO, 2009; MOIZÉ, 2013). A deficiência de cálcio e as desordens ósseas acometem cerca de 30% dos pacientes após a gastrectomia (SCHÖLMERICH, 2004), 50% segundo Rebolledo (2009) e 92% referido por Moizé (2013).

A gastrectomia subtotal é utilizada para tratamento dos tumores no terço médio e distal, e nela deve-se respeitar margem de segurança proximal de cinco a seis centímetros nos casos de neoplasia avançada, e de dois centímetros nos de

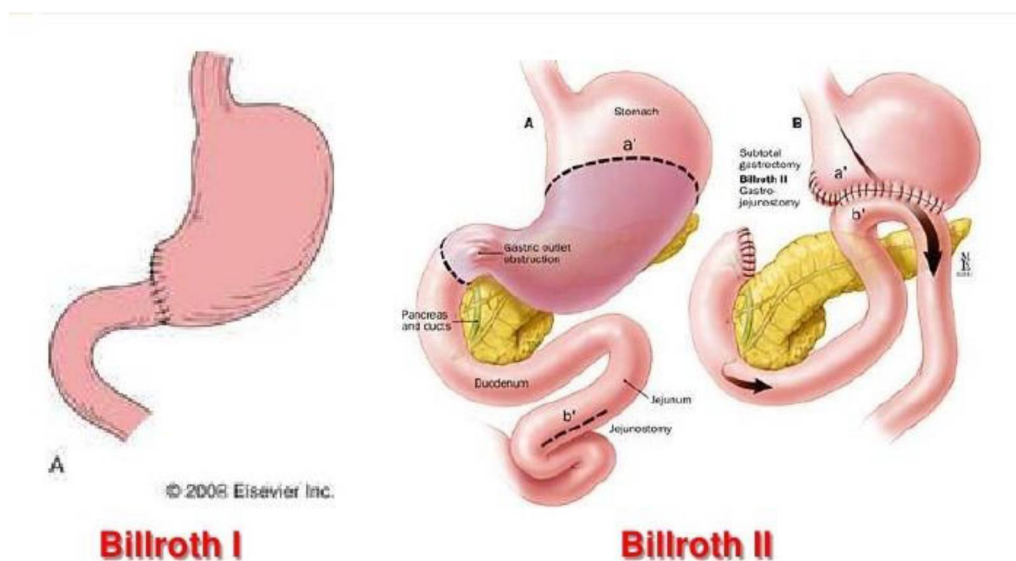
neoplasia precoce (BOZZETTI, 1997; MACHI, 2005; SIEWERT, 2006). Frequentemente a preocupação maior é em relação à margem distal. Devido ao número significativo de lesões com localização mais distal no estômago, a obtenção de segmento duodenal livre de neoplasia é tecnicamente mais frequente e difícil (FREITAS, 2008).

A causa dos tumores gástricos pode ser variada e os componentes de risco conhecidos são de origem infecciosa, como a infecção gástrica pelo *Helicobacter pylori*; gênero masculino e idade avançada; hábitos de vida como dieta pobre em produtos de origem vegetal, dieta rica em sódio, consumo de alimentos conservados de determinadas formas, como defumação ou conserva na salga, condimentos irritantes de mucosa; exposição a drogas, como o tabagismo; associação com doenças, como gastrite crônica atrófica, metaplasia intestinal da mucosa gástrica, anemia perniciosa, pólipos adenomatosos do estômago, gastrite hipertrófica gigante e história pessoal ou familiar de algumas condições hereditárias, como o próprio câncer gástrico e a polipose adenomatosa familiar (FUCCIO, 2010).

O prognóstico e tratamento são definidos pela localização e estadiamento do tumor, bem como número de linfonodos ressecados e acometidos. A localização é variada envolvendo ou não a junção esofagogástrica, ou mais raramente invadindo o duodeno. Pode-se evidenciar que mais de 50% dos pacientes com câncer gástrico inicial podem ser curados quando totalmente ressecados, enquanto cânceres proximais podem ser curados em menos de 20 % das vezes, mesmo que iniciais (MANSFIELD, 2011; WANG, 2010).

A quimioterapia e a radioterapia são consideradas tratamentos secundários, ou seja, tem lugar apenas como coadjuvante da cirurgia ou como medida paliativa (ABIB, 1997; TONETO *et al.*, 2012; XIONG *et al.*, 2013).

FIGURA 1: GASTRECTOMIAS



Billroth I - (A) Realizada anastomose com duodeno.

Procedimento Billroth II. (A) A porção inferior do estômago é removida.

(B) Realizada anastomose com jejuno. O coto duodenal é fechado.

FONTE: Johns Hopkins Medicine Gastroenterology & Hepatology, 2015.

2.2 Metabolismo e regulação da homeostasia de cálcio (Ca)

O cálcio (Ca) é um micronutriente essencial para a mineralização dos ossos, dentes e também para a regulação de reações intracelulares em diversos tecidos. Do total do mineral no organismo, 99% localiza-se nos ossos e dentes e o remanescente encontra-se distribuído nos tecidos moles e fluído extracelular. O nível sérico normal de Ca, em humanos adultos, varia de 8,7 a 10,2 mg/dL e se apresenta em três formas diferentes: como íon livre (47%), complexado com citrato, ou outros ácidos orgânicos (6,5%), ou ainda ligado a proteínas, especialmente pré-albumina (LINDER, 1991; NETTO, 2009). Entre 1 a 2% do peso corporal do adulto encontra-se na forma de cálcio. Sua estrutura consiste principalmente em cristais de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, já a sua fração circulante no organismo é dividida em 50% na forma ionizada fisiologicamente ativa; 40% ligado a proteínas não difundíveis (albumina) e biologicamente inativas não excretadas e 10% complexadas com fosfato, bicarbonato e citrato (VONDRACECK *et al.*, 2004).

A manutenção sanguínea do cálcio ionizado ($1,1-1,3\text{mmol/L}$) é controlada por meio da absorção intestinal, excreção urinária, secreção endógena e remodelação do mineral (CASHMAN, 2002). Essa regulação envolve a interação de hormônios calcitrópicos: paratormônio (PTH), $1,25$ diidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) e calcitonina (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000; CASHMAN, 2002).

O metabolismo de cálcio em mamíferos envolve diferentes sistemas fisiológicos como: ingestão, digestão, trânsito intestinal (transcelular e absorção paracelular e excreção fecal), o volume do conteúdo renal e remodelação óssea (PANSU e BRONNER, 1999; CASHMAN, 2002).

Provavelmente todo o intestino é capaz de absorver cálcio. Contudo, sob condições normais, acredita-se que apenas o intestino delgado participe nesta absorção. O local onde a maior parte da absorção do elemento vai ocorrer depende da capacidade absorptiva, do comprimento do segmento intestinal, do tempo de trânsito, da biodisponibilidade e da concentração intraluminal de cálcio (KENNY, 1982). O duodeno tem a maior capacidade absorptiva por unidade de comprimento, mas a maioria deste mineral é absorvida no jejuno devido ao seu maior comprimento total (BIRGE, 1969).

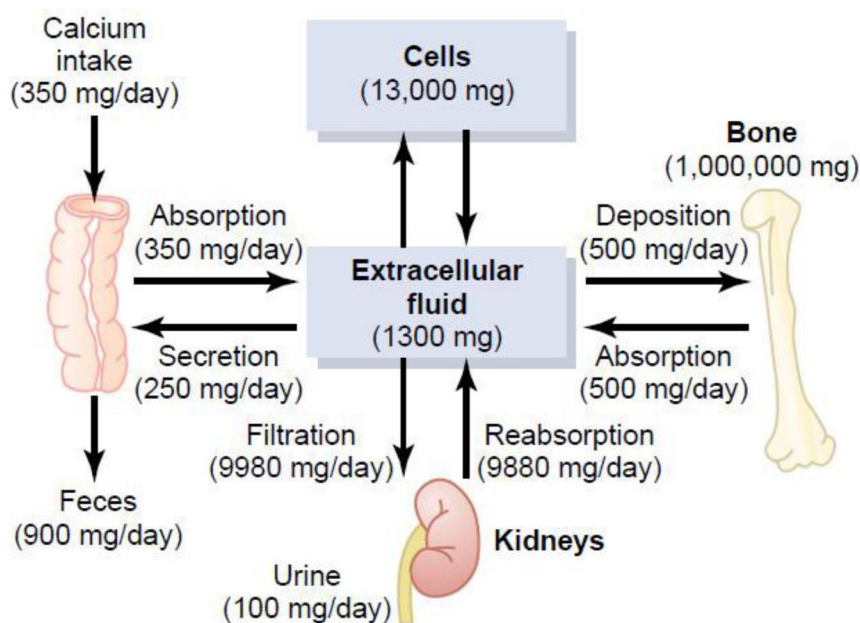
Alguns componentes da dieta promovem a solubilização do cálcio, favorecendo assim sua absorção no íleo e intestino grosso por transporte passivo. Os que se destacam são: fosfopeptídeos derivados da caseína, L-lisina e L-arginina e a lactose bem como outros carboidratos. Todas as moléculas que aumentam a osmolaridade do líquido presente no íleo estimulam a difusão passiva do cálcio (PANSU *et al.*, 1983). Outros componentes dietéticos como fosfatos, oxalatos, fitatos e sabões podem formar complexos insolúveis com o cálcio, reduzindo sua absorptividade em valores de pH próximo à neutralidade, diminuindo a absorção deste (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000).

Faz-se necessário haver um suprimento constante de cálcio dietético biodisponível para garantir a massa óssea máxima, pois devido aos componentes dietéticos que interferem, as taxas de absorção intestinal oscilam entre 30% e 50% (LANZILLOTTI *et al.*, 2003).

A hereditariedade contribui com cerca de 60 a 70% da expressão fenotípica da densidade mineral óssea (DMO), um dos mais importantes marcadores da saúde do osso. Por outro lado, fatores ambientais tais como dieta e estilo de vida contribuem com 30 a 40% da DMO (FAIRWEATHER, 2002).

A regulação do cálcio plasmático é controlada por um complexo sistema fisiológico hormonal que envolve predominantemente três hormônios: o paratormônio – PTH (hormônio da glândula paratireoide), o calcitriol (forma ativa da vitamina D), estes dois considerados hipercalcêmicos, e a calcitonina, considerada hipocalcêmica. Isto ocorre da seguinte maneira: a diminuição do cálcio plasmático sensibiliza o receptor sensor de cálcio e/ou canais de cálcio dependentes de voltagem localizados na membrana plasmática de células da paratireoide, dando início à cascata de transdução de sinal que resulta na secreção do PTH (BROWN, 2006). O PTH por sua vez irá atuar no osso, estimulando a sua reabsorção, liberando íons de cálcio para a circulação e também nos rins, elevando a reabsorção tubular de cálcio. Ao mesmo tempo, o PTH estimula a síntese de Vitamina D-calcitriol nos rins, que por sua vez irá estimular o transporte transepitelial de cálcio no intestino e no osso, elevando a reabsorção. Quando os níveis plasmáticos de cálcio voltam ao normal a glândula tireoide secreta a calcitonina. Esta vai atuar na desativação dos osteoclastos, inibindo os efeitos calcêmicos da reabsorção óssea (LIAN, 1999).

FIGURA 2: METABOLISMO E REGULAÇÃO DA HOMEOSTASIA DE CÁLCIO



FONTE: Guyton and Hall. Tratado de Fisiologia Médica. 12ª Edição Elsevier, 2012.

2.3 Remodelação óssea

No tecido ósseo, a reabsorção é seguida da formação óssea em ciclos constantes orquestrados pelas células deste tecido, que incluem os osteoclastos, osteoblastos e osteócitos. Em situações fisiológicas, a reabsorção e a formação são fenômenos acoplados e dependentes, e o predomínio de um sobre o outro pode resultar em ganho ou perda de massa óssea. A osteocalcina sérica intacta e a fosfatase alcalina óssea são marcadores de formação óssea, enquanto as piridinolinas e fragmentos telopeptídeos aminoterminais e carboxiterminais do colágeno tipo I (NTX e CTX, respectivamente), refletem a reabsorção óssea (SARAIVA, 2002).

A proteína e o cálcio atuam sinergicamente no osso. O efeito benéfico da proteína está relacionado à constituição óssea, ou seja, 50% do osso é formado por colágeno e outra metade por cálcio. Os aminoácidos do colágeno não são reutilizados em nova síntese protéica e quando a proteína da dieta é insuficiente, a reconstrução torna-se prejudicada (HEANEY, 2002). Outro fator importante sobre a relação cálcio e proteína com a massa óssea, deve-se ao efeito favorecedor na absorção intestinal de cálcio induzida pela ingestão de proteínas, principalmente pelos aminoácidos lisina e arginina, compensando desta forma qualquer perda urinária de cálcio decorrente da acidificação urinária por aminoácidos sulfúricos (PETERS, 2010). A vitamina D é necessária para o desenvolvimento e manutenção do tecido ósseo e para manutenção da homeostase normal do cálcio e do fósforo. Sem a ação desta vitamina, apenas 10 a 15% do cálcio ingerido e aproximadamente 60% do fósforo são absorvidos. A deficiência de vitamina D leva ao raquitismo, à osteomalácia e hiperparatireoidismo secundário, acelerando a perda de massa óssea (COMPHER, 2008). Além disto, existem evidências do envolvimento dessa vitamina em diversos processos celulares, incluindo efeitos na diferenciação e proliferação celular, na secreção hormonal, no sistema imune e em diversas doenças crônicas não transmissíveis (HOLICK, 2007).

Uma forma de avaliar a atividade osteoblástica ou osteoclástica dos ossos é através da mensuração dos marcadores do metabolismo ósseo. Os marcadores bioquímicos da remodelação óssea podem ser divididos em marcadores de formação e marcadores de reabsorção óssea (ALLEN, 2003).

O conteúdo de cálcio nos ossos é responsável pelo ajuste entre a formação óssea (transferência do mineral do sangue para o osso) e a reabsorção óssea

(transferência do mineral do osso para o sangue). Assim, a redução da reserva esquelética de cálcio é equivalente à redução de massa óssea, e o aumento ou adequação da reserva é equivalente ao ganho de massa óssea (HEANEY, 2006).

2.4 Marcadores do metabolismo de cálcio

Os marcadores da formação óssea são detectados somente no soro e os marcadores de reabsorção óssea podem ser detectados no soro ou na urina (ALLEN, 2003). Os marcadores da formação óssea são a osteocalcina (OC), fosfatase alcalina total (FAT), fosfatase alcalina óssea (FAO), peptídeo carboxiterminal do procolágeno tipo I (PICP) e peptídeo aminoterminal do procolágeno tipo I (PINP) enquanto os marcadores de reabsorção óssea são a fosfatase ácida tartarato resistente (TRAP), o telopeptídeo carboxiterminal do colágeno tipo I (ICTP), piridinolina (U-PYD), deoxipiridinolina (U-DPD), hidroxiprolina (U-HYP), porção aminoterminal do procolágeno I (U-NTX) e porção carboxiterminal do procolágeno I (U-CTX) (DELMAS, 2001).

A fosfatase alcalina óssea (FAO) trata-se de uma enzima produzida somente pelos osteoblastos sendo essencial para mineralização óssea (BREUR et al., 2004). A FAO possui importante papel na precipitação de cálcio e fósforo entre as fibras colágenas durante a formação óssea. Níveis elevados da FAO ocorrem frequentemente em pacientes portadores de doenças ósseas, devido ao aumento da atividade osteoblástica, como osteíte deformante, osteomalácia, hiperparatireoidismo, consolidação de fraturas e neoplasias ósseas primárias ou secundárias (ALLEN, 2003).

A osteocalcina (OC) é um peptídeo secretado pelos osteoblastos maduros, condócitos hipertrofiados e odontoblastos, proteína ácida carboxiglutâmico óssea, é uma pequena proteína do colágeno de 49 aminoácidos arranjados em uma simples cadeia peptídica na matriz extracelular mineralizada do tecido ósseo, dentina e cimento, o que lhe dá a peculiaridade de ligar cálcio (GUNDBERG, 1984; LEE, 2000).

2.5 Deficiência de minerais na gastrectomia

Os minerais compõem cerca de 4% da massa corporal e são separados em nutrientes minerais que têm uma exigência diária de >100 mg, micronutrientes

minerais com uma exigência diária de <100 mg e minerais tóxicos que são prejudiciais para o corpo. Em geral, existem ≥ 5 g de nutrientes minerais no corpo e ≤ 5 g de micronutrientes minerais. O cálcio, magnésio, sódio, potássio, enxofre, fósforo e o cloro são nutrientes minerais, enquanto que o boro, cromo, cobalto, cobre, ferro, zinco, manganês, molibdenio e o níquel são micronutrientes. Arsênico, mercúrio, alumínio, cádmio e chumbo são minerais tóxicos (HEIMBURGER, 2000; DWYER, 2001).

A vitamina B12, ou cianocobalamina, desempenha importantes funções metabólicas e neurotróficas no organismo. Pacientes com deficiência de B12 podem apresentar sintomas diversos como anemia megaloblástica, neuropatia periférica e sintomas psiquiátricos, especialmente transtornos depressivos (HVAS e NEXO, 2006). A deficiência desta vitamina pode ser devida a insuficiente ingestão de proteína e de cobalamina, má digestão da cobalamina com proteína ligada, secreção insuficiente do fator intrínseco, má absorção do complexo fator intrínseco/cobalamina (GARRIDO JÚNIOR *et al.*, 2006). A vitamina B12 está envolvida na maturação das células vermelhas. Geralmente, a deficiência de vitamina B12 pode levar à anemia macrocítica, uma condição caracterizada por pouca produção de células vermelhas e uma diminuição da habilidade de transporte de oxigênio (MANCINI *et al.*, 2010).

2.6 Alimentos funcionais e prebióticos

O Japão foi o primeiro a introduzir o termo “alimentos funcionais” em meados de 1980, principalmente em função de uma população sempre crescente de idosos e da preocupação, tanto da população em geral como do governo, na prevenção das doenças crônicas e degenerativas (MANNING, 2004). Foi o país pioneiro na formulação do processo de regulamentação específica para os alimentos funcionais. Refere-se aos alimentos processados, similares em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal e que demonstraram benefícios fisiológicos e, ou, reduziram o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais. Conhecidos como Alimentos para Uso Específico de Saúde – *Foods for Specified Health Use* (FOSHU), estes alimentos trazem um selo de aprovação do Ministério da Saúde e Bem-Estar Japonês (HASLER, 1998; RAUD, 2008; GRANATO *et al.*, 2010).

A legislação brasileira não define alimento funcional, define alegação de propriedade funcional e propriedade de saúde e onde estabelece as diretrizes para sua utilização, bem como as condições de registro para os alimentos com alegação de propriedade funcional e/ou, de saúde (ANVISA, 2005). Para possuir propriedade funcional e/ou, de saúde, tanto os alimentos como as substâncias bioativas e probióticos isolados devem ser, obrigatoriamente, registrados junto ao órgão competente (ANVISA, 2005). Os probióticos, prebióticos e simbióticos podem manter um equilíbrio apropriado da microbiota que pode ser assegurado por uma suplementação sistemática da dieta impedindo que microrganismos prejudiciais e potencialmente patogênicos dominem e prejudiquem as funções fisiológicas do hospedeiro (BIELECKA, 2002).

Os prebióticos podem ser extraídos e incorporados a diferentes produtos alimentícios. Geralmente, oligossacarídeos podendo ser derivados da galactose, maltose, xilose e frutose (ROBERFROID, 2000).

Prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro pela estimulação seletiva do crescimento e/ou da atividade de um ou de um número limitado de bactérias no cólon (GIBSON, 1998). Eles podem ser utilizados no metabolismo de bactérias intestinais. As substâncias prebióticas como polidextrose (JIE *et al.*, 2000), lactulose, lactitol, xilitol, inulina e alguns oligossacarídeos não digeríveis, estimulam o crescimento das bifidobactérias do cólon (WANG, 2009). Os efeitos positivos incluem o alívio da má-digestão de lactose, o aumento da resistência à infecção bacteriana, o estímulo à resposta imune e a possível proteção contra o câncer, incluindo a diminuição do risco das doenças intestinais, cardiovasculares, diabetes não insulino-dependente, obesidade e osteoporose (MANNING, 2004; SANTOS, 2011).

As substâncias prebióticas, ao serem fermentadas no cólon, especialmente por bifidobactérias, produzem alguns gases, ácidos orgânicos e ácidos graxos de cadeia curta como o ácido propiônico, acético e butírico. Estes últimos, são responsáveis pela diminuição do pH intestinal levando ao aumento da concentração de minerais ionizados e, como consequência, aumentando a solubilidade do cálcio e estimulando sua difusão (CAPRILES *et al.*, 2008).

A translocação bacteriana e de suas endotoxinas ocorre a partir do intestino, através das células M, que promovem o transporte de substâncias para o organismo. No cólon, as bactérias prebióticas degradam as fibras e produzem uma

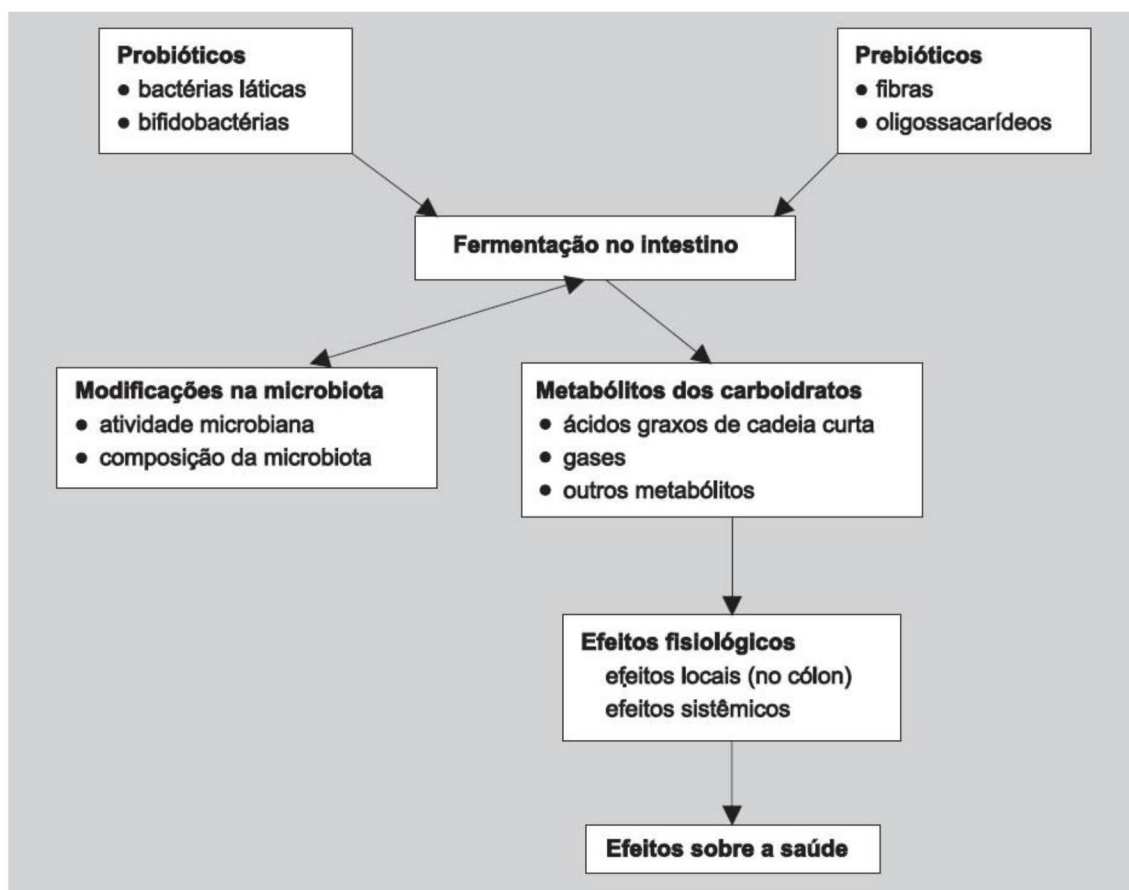
série de nutrientes, incluindo os ácidos graxos de cadeia curta, que estimulam o crescimento da mucosa e a defesa intestinal, dificultando a translocação de bactérias (STEFE *et al.*, 2008). As várias hipóteses propostas para explicar este efeito, são: a) o efeito osmótico; b) a acidificação do conteúdo do cólon devido à fermentação e produção de ácidos graxos de cadeia curta; c) a formação de sais solúveis de Ca e Mg a partir desses ácidos e d) a hipertrofia da parede do cólon (ROBERFROID, 2000).

O aumento da biodisponibilidade do cálcio poderia ser devido à transferência desse mineral do intestino delgado para o grosso e do efeito osmótico da inulina e da oligofrutose, o qual resultaria na transferência de água para o intestino grosso, permitindo, assim, que o cálcio se torne mais solúvel. A melhor biodisponibilidade do cálcio no cólon poderia ser também resultante da hidrólise do complexo cálcio-fitato, por ação de fitases liberadoras de cálcio bacterianas. A melhor absorção foi associada à diminuição de pH nos conteúdos do íleo, ceco e cólon. Essa diminuição resulta em aumento na concentração de minerais ionizados, condição esta que facilita a difusão passiva, a hipertrofia das paredes do ceco e o aumento da concentração de ácidos graxos voláteis, sais biliares, cálcio, fósforo, fosfato e, em menor grau, magnésio, no ceco (KAUR e GUPTA, 2002).

Após a ingestão de poucas gramas por dia de prebióticos, que varia de 4 a 15 g/dia, segundo GIBSON (1998), a composição da flora fecal é significativamente modificada; as *Bifidobacterium* se tornam dominantes e espécies potencialmente prejudiciais, como *Clostridia*, *Fusobacterium* e *Bacteroides* têm seu número reduzido (GIBSON, 1998).

Os prebióticos reúnem algumas características que devem fazer parte de sua classificação, tais como: não ser digerido nem absorvido pelo estômago e intestino delgado; ser fermentado por certas bactérias do cólon que são benéficas à saúde; incentivar o crescimento de bactérias do cólon (bifidobactérias e lactobacilos), modificando favoravelmente a composição da flora intestinal e/ou estimular a atividade metabólica destas bactérias, beneficiando o hospedeiro com a produção de metabólitos específicos ou componentes bioquímicos; e promover benefícios à saúde (DENIPOTE *et al.*, 2010; ROBERFROID, 2000)

FIGURA 3: REAÇÕES DOS ALIMENTOS FUNCIONAIS COM A MICROBIOTA INTESTINAL E SEUS EFEITOS COM A SAÚDE



FONTE: Food Ingredients Brasil, 2011.

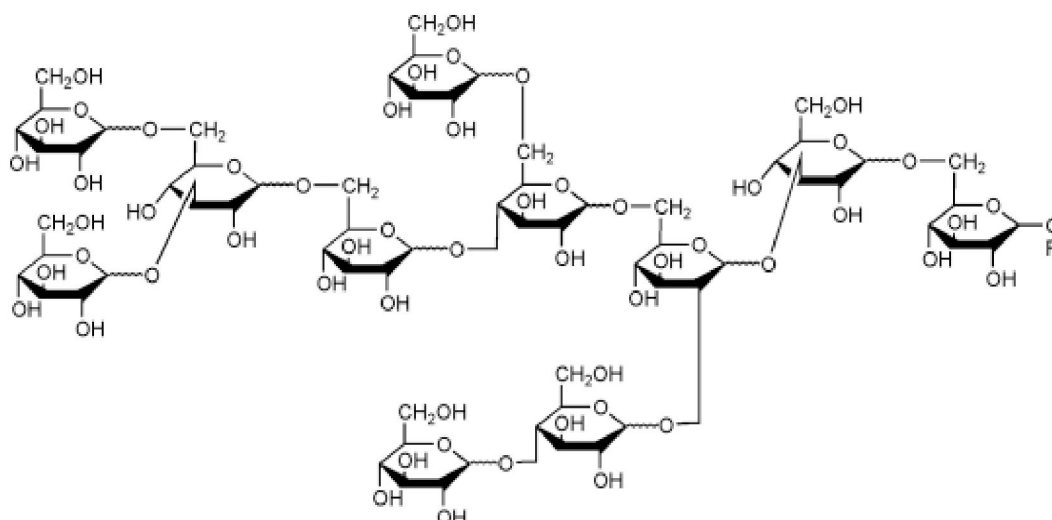
2.7 Polidextrose (PDX)

A polidextrose é um polissacarídeo ou oligossacarídeo resistente e reconhecido como uma fibra solúvel na mesma categoria. É um polímero de carboidrato não digerível, com um grau médio de polimerização de 12, sintetizado a partir da glicose e do sorbitol, utilizando como catalisador um ácido orgânico, por exemplo, ácido cítrico (JIE *et al.*, 2000; RANINEN *et al.*, 2011).

O resultado é uma estrutura complexa e resistente à hidrólise pelas enzimas digestivas humanas com baixa produção e acúmulo de gás ao ser fermentada pela microbiota em sua passagem pelo cólon intestinal, devido, principalmente, ao seu alto grau de polimerização e consequente resistência ao processo de fermentação pela microbiota em comparação a outros prebióticos. Ela é parcialmente fermentada no colo – cerca de 50% em seres humanos – e tem propriedades prebióticas e de formação de volume (LINEBACK, 1998; GRAIG *et al.*, 1998). Apresenta baixa digestibilidade não sofrendo digestão no trato gastrointestinal superior, tanto pela

acidez do estômago, quanto pelas enzimas digestivas, desempenhando efeitos benéficos como melhora na função gastrointestinal, melhora no tempo orofecal, aumento e volume das fezes, aumento da concentração de bifidobactérias fecais, diminuição da produção de compostos putrefativos e pH fecais e melhora na absorção de minerais em humanos. (CRAIG *et al.*, 1998; MANNING e GIBSON, 2004; ROBERFROID *et al.*, 2010; BOLER *et al.*, 2011).

FIGURA 4. ESTRUTURA MOLECULAR DA POLIDEXTROSE



FONTE: PUTALLA, 2013

A PDX tem se mostrado com resultados importantes em vários estudos que apontam seus efeitos benéficos em ratos e humanos. De acordo com Santos *et al.*, (2009) os ratos gastrectomizados apresentaram uma melhor absorção aparente frente aos que não receberam a suplementação, bem como uma ótima recuperação em 8 semanas de estudo (SANTOS *et al.*, 2009)

Hara *et al.* (2000) em estudo com animais, a ingestão de PDX (5g/100g de dieta) incrementou a concentração de cálcio nos ossos de ratas normais, o que pode ser relevante para diminuir o risco de osteoporose.

A utilização da experimentação animal é essencial para o progresso da ciência, pois inúmeras são as lacunas de conhecimento básico e de produtos tecnológicos que tratam o conjunto de questões de saúde humana e veterinária. Apesar do país já possuir e utilizar-se de diversas abordagens alternativas, como o uso de cultura de células, ou o uso de simulações computacionais, o setor de pesquisa biomédica e biológica ainda não pode prescindir dos procedimentos que

utilizam animais de laboratório, tais como testes de cinética ou de toxicidade de novos medicamentos ou produtos imunobiológicos. Há normas internacionais que, inclusive, exigem o teste de vacinas em animais experimentais para garantir qualidade para o uso humano.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da suplementação com polidextrose nos níveis séricos de minerais e parâmetros fermentativos no conteúdo cecal em ratos wistar gastrectomizados.

3.2 Objetivos Específicos

Caracterizar a composição centesimal da dieta;

Comparar o ganho de peso e o consumo de dieta dos grupos experimentais;

Medir o nível do cálcio sérico, fósforo, fosfatase alcalina, osteocalcina, proteínas totais, albumina, globulina;

Quantificar os teores de cálcio e fósforo ósseos dos fêmures;

Determinar os parâmetros fermentativos e quantificar os ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal nos grupos experimentais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental, controlado.

A pesquisa foi realizada em parceria entre a Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e, Universidade Federal do Paraná (UFPR), em virtude de ter sido aprovada no Programa de Infraestrutura para Jovens Pesquisadores/Programa Primeiros Projetos PPP (Parceria Fundação Araucária/CNPQ), protocolo de número 24639 e as docentes envolvidas na pesquisa estarem lotadas nas referidas Universidades. O experimento foi realizado na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul que cedeu os animais e instalações do Biotério Central.

4.1. Ensaio Biológico

O experimento *in vivo* foi conduzido no Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Todo o experimento foi realizado de acordo com os princípios e procedimentos descritos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMS sob o protocolo de número 640/2014, sendo o trabalho conduzido dentro dos padrões éticos internacionais que visam eliminar todo o sofrimento desnecessário ao ser vivo.

Inicialmente foi realizado um ensaio piloto com duas concentrações de polidextrose (7,5% e 10%) em quatro animais.

4.1.1 Animais para experimentação

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus*: var. *Albinus*, *Rodentia Mammalia*), linhagem Wistar, sendo todos machos, com três semanas de vida, pesando em torno de 100g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

4.1.2 Condições experimentais

Os animais foram mantidos em caixas coletivas durante todo o período experimental, exceto em dias de coleta de fezes, em ambiente com temperatura controlada ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) e 55% de umidade, com ciclo claro escuro de 12 horas iniciando às 7 horas da manhã até completarem 200g os animais foram alimentados com

ração BioBase (BioTec® Lote: 20112014) comercial, não purificada e de fórmula quimicamente definida. A partir desse peso, os animais foram alimentados com ração AIN-93M (REEVES *et al.*, 1993) até alcançarem o peso ideal para o procedimento cirúrgico (aproximadamente 250g). Água e ração foram oferecidos sob o sistema de livre acesso, exceto durante o período pós-operatório imediato.

4.1.3 Delineamento experimental

Após sete dias do procedimento cirúrgico, os animais foram separados em quatro grupos de dez animais.

Grupo SHAM PDX: Animais sham alimentados com ração AIN-93M com adição de polidextrose a 7,5%. (Dieta Experimental PDX)

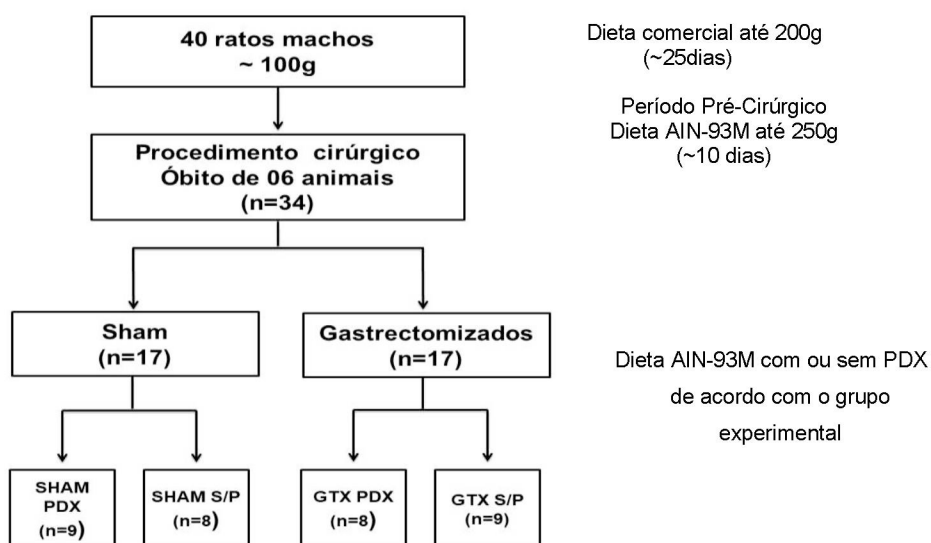
Grupo SHAM S/P: Animais sham alimentados com ração AIN-93M sem adição de polidextrose. (Dieta Controle S/P)

Grupo GXT PDX: Animais gastrectomizados alimentados com ração AIN-93M com adição de polidextrose a 7,5%. (Dieta Experimental PDX)

Grupo GXT S/P: Animais gastrectomizados alimentados com ração AIN-93M sem adição de polidextrose. (Dieta Controle S/P)

Dos quarenta ratos, seis vieram a óbito após o procedimento cirúrgico, três do grupo gastrectomizado e três do grupo sham, sendo redistribuídos entre os grupos (Figura 5).

FIGURA 5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL



FONTE: O AUTOR, 2017.

4.2 Procedimento Cirúrgico

O procedimento cirúrgico foi realizado pela pesquisadora rigorosamente conforme os princípios da técnica cirúrgica específica já padronizada, bem como a anatomia do animal (WAYNFORTH, 1980).

Para a realização da cirurgia, os animais (com peso médio de 250g) foram mantidos em jejum prévio de aproximadamente 8 horas e anestesiados pela combinação de Ketamina (80 ml/Kg) (Ketagal Laboratório GALMEDIC, Luque - Paraguai Lote: 004025) e Xilazina (10 ml/Kg) Anasedan Sespo Indústria e Comércio Ltda., Paulínia – São Paulo, lote: 016013) por via intraperitoneal. A anestesia foi certificada por meio da ausência do reflexo neuromuscular.

Os seguintes procedimentos foram adotados, obedecendo à ordem discriminada abaixo:

- a) Tricotomia de toda a extensão do abdômem;
- b) Assepsia do abdômem com álcool iodado;
- c) Colocação de campo esterilizado fenestrado;
- d) Abertura da cavidade abdominal do animal, através de incisão mediana desde o apêndice xifóide até metade da distância entre o mesmo e o quadril do animal.

4.2.1 Procedimento Cirúrgico: Gastrectomia a BILLROTH II com Vagotomia Troncular Anterior

O procedimento cirúrgico de gastrectomia a BILLROTH II com vagotomia troncular anterior foi conduzida de acordo com a sequência descrita a seguir:

- a) Identificação do estômago do animal e da sua vascularização na pequena e grande curvatura. Isolamento dos vasos, pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão com poliéster nº 3-0;
- b) Identificação dos vasos junto ao piloro e duodeno. Isolamento dos mesmos com cuidado para não lesar o parênquima pancreático próximo, e a seguir pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão nº 3-0 com poliéster;
- c) Colocação de pinças mosquito reto sobre o piloro e o estômago; a seguir ressecado com tesoura, a área correspondente ao antro do animal, completando assim a gastrectomia;

- d) Fechamento do coto duodenal, utilizando fio polipropileno nº 4-0. Extração de excesso de parede esmagada pela pinça;
- e) Identificação do jejuno, a cerca de 5 cm do ligamento de Treitz;
- f) Abertura da alça intestinal, de cerca de 1 cm de extensão, no bordo contramesenterial, com auxílio de tesoura;
- g) Realizada a gastroenteroanastomose término-lateral (estômago/jejuno) no sentido isoperistáltico da alça intestinal, utilizando fio de polipropileno nº 4-0, com sutura contínua e pontos extramucosos;
- h) Identificação do nervo vago anterior junto ao esôfago e secção com tesoura, completando assim a Vagotomia Troncular Anterior;
- i) Revisão e limpeza da cavidade e fechamento da parede abdominal utilizando sutura contínua de fio de algodão com poliéster 3-0 e em seguida fechamento da pele com pontos intradérmicos com este mesmo fio.

Procedimentos realizados durante a gastrectomia a BILLROTH II com vagotomia troncular anterior (APENDICE I).

4.2.2 Procedimento cirúrgico SHAM

A cavidade abdominal dos animais foi mantida aberta por aproximadamente 45 minutos (tempo estimado de duração da gastrectomia) a fim de promover estresse cirúrgico similar ao dos animais gastrectomizados. Os animais que entraram para o grupo SHAM passaram pelo mesmo processo anestésico, fechamento da parede abdominal e da pele que aos do grupo gastrectomizado.

4.2.3 Materiais

Os materiais utilizados no procedimento cirúrgico foram:

- a) Para raspagem dos pelos: Máquina para tricotomia Golden A6 Oster®;
- b) Para anestesia: utilizou-se como anestésico a combinação de Ketamina e Xilazina, administrado através de injeção intraperitoneal;
- c) Materiais cirúrgicos: porta agulhas infantil, pinça anatômica, tesoura de Metzembaum delicada, tesoura reta, pinças mosquito curvas e retas, bisturi nº 4 contendo lâmina nº 23;

d) Fio de Polipropileno azul 4-0 – Não absorvível – 75 cm – Agulha 2 x 1/2 – 2,0 cm – Shaldon® - Fios Cirurgicos Ltda – São Luiz Montes Belos – Goiás – Brasil, Lote: 2300514013, utilizado para anastomoses gástrica e intestinal;

e) Fio de Algodão com poliéster 3-0 – Não absorvível – 45 cm – Agulha 3/8 – 3,0 cm – PolySuture® - Polysuture Ind. Com. Ltda – São Sebastião do Paraíso – Minas Gerais – Brasil – Ref: F15006, utilizado para secção e ligadura de vasos e para o fechamento da parede abdominal do animal.

4.2.4 Cuidados pós-operatórios

Imediatamente após o término da cirurgia, os animais foram acondicionados ao lado de um aquecedor Marca Fama – Modelo AQF 1000N, até total reestabelecimento da anestesia. Em seguida, os ratos receberam soro glicosado 5% (KabiPac®, Fresenius Kabi Brasil Ltda, Aquiraz, Ceará Lote: 744L3879) “*ad libitum*” durante 12 horas e, logo após tiveram livre acesso à ração formulada (Tabela 1) e água, conforme protocolo estabelecido (SANTOS *et al.*, 2010).

Durante os 5 primeiros dias de pós-operatório, os animais receberam injeção intramuscular de anti-inflamatório não-esteroidal (meloxicam 0,1mg/Kg) 1 vez ao dia.

4.3 Dietas Experimentais

A fase experimental teve início 7 (sete) dias após o procedimento cirúrgico, com duração de 60 (sessenta) dias.

Foram confeccionados dois tipos de dietas para a realização do experimento: dieta controle AIN-93M padrão, sem adição de polidextrose (PDX) e dieta experimental, com adição de polidextrose na proporção de 7,5g/100g de dieta, ambas elaboradas de acordo com o “American Institute of Nutrition” (REEVES *et al.*, 1993).

A suplementação de polidextrose foi adicionada à formulação padrão da dieta AIN-93M em substituição à celulose e em parte do amido de milho.

Após a formulação das dietas experimentais, estas foram peletizadas e secas a 40°C em estufa com circulação e renovação de ar (Lawes® Máquinas e Equipamentos Ltda. Série: 88081521). Esse procedimento foi realizado para facilitar a sua administração aos animais, visto que são roedores.

As dietas foram confeccionadas no Laboratório de Processamento de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública da UFMS e, oferecidas diariamente aos animais em quantidade suficiente para garantir o consumo *ad libitum*.

Na tabela 1 está apresentada a composição das dietas utilizadas no experimento

TABELA 1. COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS (g/kg) DE ACORDO COM A AIN-93M (REEVES *et al.*, 1993)

Ingredientes	Dieta Controle* (SP)	Dieta Experimental (PDX)**
Amido de milho ²	466	441
Maltodextrina ³	155	155
Caseína ^{3***}	140	140
Sacarose ⁴	100	100
Óleo de soja ⁵	40	40
Celulose ³	50	0
Polidextrose ¹	0	75
Mix mineral ³	35	35
Mix vitamínico ³	10	10
L-cistina ⁶	1,8	1,8
Bitartarato de colina ⁷	2,5	2,5
Terc-butil-hidroquinona ⁷	0,008	0,008

NOTAS:

¹ Empreendimento Comercial e Industrial Ecil Ltda, São Paulo, SP, Brasil.

² Emifor, Contagem-MG, Brasil.

³ Rhoister indústria e comércio Ltda, Araçoiaba da Serra, SP, Brasil.

⁴ Camil alimentos S/A, Araquari, SC, Brasil.

⁵ Bunge alimentos S.A, Gaspar, SC, Brasil.

⁶ Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda. Diadema, SP, Brasil.

⁷ Sigma-Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, Brasil.

*Proteína bruta > 85%.

* Sem adição de polidextrose

** Com adição de polidextrose (7,5%)

4.3.1 Composição centesimal das dietas

TABELA 2. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E VALOR CALÓRICO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS / CAMPO GRANDE (MS), 2016

Parâmetros	Dieta Controle	Dieta Experimental (PDX) ^b
------------	-------------------	--

	(SP) ^a	
	Média±DPM	Média±DPM
Umidade (%)	9,11±0,36	9,88±0,26
Cinzas (g.100g ⁻¹)	3,03±0,02	2,81±0,05
Lipídeos (g.100g ⁻¹)	4,89±0,90	4,89±0,71
Proteínas (g.100g ⁻¹)	9,55±0,24	9,52±0,30
Carboidratos (g.100g ⁻¹)*	73,42±1,36	72,91±0,50
Valor calórico(kcal.100g ⁻¹)**	375,87±3,18	373,69±3,72

NOTAS: DPM = desvio-padrão da média; ± = desvio-padrão

*Determinação de carboidratos realizada por diferença; **Calculado pela soma: (proteínas x 4 kcal) + (lipídeos totais x 9 kcal) + (carboidratos x 4 kcal).

^aSem adição de povidexose; ^bCom adição de povidexose (7,5%)

4.3.2 Determinação da composição centesimal das dietas formuladas

A composição centesimal das dietas foi realizada de acordo com as seguintes metodologias:

Nitrogênio total e proteína: determinado pelo método Micro-Kjeldahl, segundo método descrito pela AOAC (1990). Fundamenta-se na digestão ácida da amostra em presença de catalisadores, formação de amônia, destilação em meio básico e titulação com solução padrão de ácido clorídrico.

Lipídios totais: foram determinados por gravimetria, conforme método descrito por Bligh e Dyer (1959), empregando-se como solventes, clorofórmio, metanol e água para extração dos lipídios.

Umidade e sólidos totais: foram determinados por gravimetria, de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC (1990). Cerca de 4g de amostra foram pesadas em balança analítica digital (A&E[®] Company/Limited, Modelo: HR-202, Tóquio, Japão) em cápsulas de porcelana previamente taradas. As amostras foram secas a 105°C por 24 horas em estufa (Fanem[®] Estufa de secagem e esterilização Modelo: 315 SE, São Paulo, Brasil), em seguida resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas. As operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até peso constante das amostras.

Resíduo mineral fixo (cinzas): foram determinados por gravimetria, de acordo com os procedimentos descritos na AOAC (1990). Baseia-se na determinação do resíduo inorgânico que permanece depois da incineração da amostra a 50-550°C, com destruição da matéria orgânica.

Teor de fibras: determinado através de cálculo teórico de acordo com as especificações do laudo técnico da empresa.

Valor calórico: determinado pela soma de proteína bruta, lipídios e carboidratos totais, conforme a fórmula: $\text{Valor calórico} = (\text{proteína bruta} \times 4) + (\text{lipídios totais} \times 9) + (\text{carboidratos} \times 4)$.

Carboidratos totais: Foi realizada através do cálculo teórico (por diferença) nos resultados das triplicatas, conforme a fórmula: $\% \text{ Carboidratos} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteína} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ cinzas})$.

Determinação de Cálcio: Foi determinado em Laboratório especializado de Metabolismo Mineral e Biomaterial, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Para digestão e análise das amostras foi pesado 0,5 gramas de cada amostra de ração. Cada alíquota foi colocada em tubo DAP 60, próprio para digestão em forno micro-ondas (Speedwave® Berghof, Alemanha), juntamente com 5 mL de ácido nítrico a 65% (Merck) e 3 mL de peróxido de hidrogênio a 35% (Merck). Após a digestão, a solução foi reconstituída para um volume final de 100 mL com água ultrapura (PURELAB Option-Q®, Elga-Veolia, UK).

As leituras das amostras foram realizadas por um espectrômetro de emissão óptica, indutivamente acoplado com plasma de argônio (ICP-OES-Icap 6000® Thermo Scientific, EUA). Foi utilizado gás argônio de alta pureza (99,999%) e solução padrão estoque multi-elementar contendo 100 mg/L do elemento ferro (Fe) (Aldrich®, Milwaukee, WI, USA). O ICP-EOS foi otimizado para o comprimento de onda de 1840 nm (RIBEIRO, 2002).

4.3.3 Acompanhamento da ingestão hídrica dos animais

A ingestão hídrica foi mensurada duas vezes por semana, utilizando-se bebedouros preenchidos com 500 mL de água, os quais eram oferecidos para cada caixa coletiva. As sobras de água destes bebedouros foram verificadas por meio de provetas graduadas, sendo o resultado dividido pelo número de animais alojados em cada caixa e número de dias.

4.3.4 Acompanhamento do consumo de dieta e ganho de peso dos animais

Durante a fase de crescimento que antecedeu o experimento, o ganho de peso dos animais foi verificado uma vez por semana com o objetivo de identificar o

peso adequado para o procedimento cirúrgico (~250g). Nesse período não foi monitorado o consumo de dieta. No entanto, durante o período experimental (após a cirurgia) o controle do consumo de dieta e do ganho de peso dos animais foi realizado duas vezes por semana.

A mensuração do consumo de dieta foi realizada considerando a quantidade de dieta oferecida em cada caixa e subtraindo a sobra da dieta. O resultado foi dividido pelo número de ratos alojados nas respectivas caixas e número de dias.

O ganho de peso dos animais foi realizado individualmente com os ratos acomodados em um recipiente de plástico, sendo que dieta e os animais foram pesados em balança digital semi-analítica (Marte Científica & Instrumentação Industrial Ltda, São Paulo, modelo LS2), com capacidade máxima para 2.010 g e sensibilidade de 0,5 g.

4.3.5 Suplementação de Vitamina B₁₂ (Cianocobalamina)

Uma semana após a cirurgia, conforme rotina padronizada em outros estudos (OHTA *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2011a), os ratos gastrectomizados começaram a receber suplementação de Vitamina B₁₂. A administração foi realizada por via intramuscular com Bedoze[®] (SM Registro: 014/75), na concentração de 0,5 mg/kg, a cada 15 (quinze) dias até o final do experimento, para a prevenção da anemia megaloblástica. Os animais do grupo SHAM S/P (falso operado) receberam cloreto de sódio a 0,9%, Laboratório Farmacêutico Arboreto – Ltda (Lote: 15125715), para simular o mesmo estresse da aplicação do injetável intramuscular.

4.4 Métodos analíticos

4.4.1 Preparo do material para leitura das amostras

Todos os materiais de plástico ou vidro utilizados foram imersos por um período mínimo de 24 horas em banho de ácido nítrico superpuro a 15% (v/v), para descontaminação de qualquer resíduo de metal contaminante. Em seguida, foram lavados com água purificada, obtida por desionização pelo equipamento Milli-Q (Millipore).

4.4.2 Amostras específicas

4.4.2.1 Cálcio da dieta

Durante todo o experimento, três vezes por semana foi coletado em torno de 100 g de cada lote das dietas experimentais e armazenadas em freezer a -18°C (Eletrolux[®], Air Flow System Modelo: DC48). Ao final do experimento, os lotes foram homogeneizados em Moinho (Tecnal[®] Equipamentos para Laboratórios Ltda., Modelo: TE – 631/1, Piracicaba, São Paulo). Para a determinação de cálcio, pesou-se 0,5g de cada amostra. Foi determinado em Laboratório especializado de Metabolismo Mineral e Biomaterial, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, (UFMS).

4.4.2.2 Cálcio Fecal

Para a coleta de fezes, os animais foram colocados em gaiolas individuais por um período de 24 horas. A coleta foi realizada nos dias 15, 35 e 55 da fase experimental (CHONAN; WATANUKI, 1996). Após cada coleta as fezes foram armazenadas em freezer a -18°C (Eletrolux[®], Air Flow System Modelo: DC48). Ao final do experimento, as fezes foram secadas em estufa (Soc. Fabbe Ltda. Modelo: 119, São Paulo, São Paulo) à 60°C até apresentarem peso constante. Feito isso, as fezes foram homogeneizadas em liquidificador (ARNO[®], Modelo: LN30) Para determinação de cálcio foram pesadas 0,5 g de cada amostra.

4.5 Coleta das amostras de sangue para dosagens séricas

Ao término do experimento o sangue do animal foi coletado por punção cardíaca. No dia anterior à coleta, os animais foram alojados em gaiolas individuais e submetidos a 8 horas de jejum. O sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca, após os mesmos terem sido anestesiados. Em seguida, o sangue foi centrifugado à 7.000rpm/15min em centrífuga (Fanem[®], Modelo: 206/1, São Paulo, São Paulo) para obtenção do soro e realização de todas as dosagens séricas. Foi utilizado para coleta Tubo com Gel-Soro Ativador de Coagulação, (Vacuette[®], Modelo: 8019895, Franklin - USA. Foi utilizado para coleta Tubo com Gel-Soro Ativador de Coagulação, Vacuette[®].

4.5.1 Cálcio, Fósforo, Fosfatase Alcalina, Proteínas totais e frações

Os conteúdos de cálcio, fósforo, fosfatase alcalina e proteínas totais e frações séricas foram determinados por método colorimétrico automatizado em laboratório especializado em análises veterinárias Diagno Vet Laboratório Veterinário Ltda, na cidade de Campo Grande, MS.

4.5.2 Osteocalcina

O conteúdo de osteocalcina foi determinado pelo método de quimioluminescência em laboratório especializado em análises bioquímicas, Instituto Hermes Pardini Ltda, na cidade de Vespasiano, MG.

4.6 Coleta do conteúdo cecal dos animais

Após confirmação da eutanásia em câmara de CO₂, a cavidade abdominal dos animais foi aberta e o ceco delimitado. O pH do conteúdo do ceco foi aferido através de uma pequena incisão na parede do órgão, onde foi introduzido eletrodo portátil de calibre 5mm de diâmetro (Digimed® Instrumentação Analítica, DM-22, São Paulo, São Paulo). O conteúdo do ceco foi então coletado em tubos tipo Eppendorfs® de 2mL (Kasvi®, Modelo: K6-0200, Lote: 78293) imediatamente congelado a -18°C para posterior quantificação de ácidos graxos de cadeia curta.

4.6.1 Quantificação dos ácidos graxos no conteúdo cecal

A extração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no conteúdo do ceco foi adaptada de Zhao e col. (2006). Meio grama de conteúdo do ceco foi suspenso em 5 mL de água e homogeneizado por 3 min. O pH da suspensão cecal foi ajustado entre 2 e 3 pela adição de solução de HCl 5M. Esta suspensão foi então transferida para tubos de polipropileno e centrifugada por 30 min a 3000 rpm (Fanem®, Modelo: 206/1, São Paulo – São Paulo), obtendo-se um sobrenadante limpo que foi injetado em cromatógrafo gasoso para quantificação dos AGCC.

Foi utilizado cromatógrafo Shimadzu GC 2010, equipado com detector de ionização de chama (DIC). Utilizou-se coluna NUKOL, de 30 m x 0,53 mm (diâmetro interno) x 0,50 µm (espessura de filme), que foi aquecida usando a seguinte programação: isotérmica a 195°C durante 4 min, 10°C/min até 195°C, e mantida isotermicamente em 195°C por 4 min. As outras condições cromatográficas foram: volume de amostra injetada (1 µL); temperatura do injetor (230°C); temperatura do

detector (230°C); razão de split: 15; fluxo do gás de arraste (He) - 1,97 mL/min; fluxo do make-up ou gás auxiliar (N₂) – 30 mL/min; fluxos dos gases da chama: ar sintético (400 mL/min) e H₂ (40 mL/min). As análises foram determinadas no Laboratório de Análises de Combustíveis (LABCOM) Departamento de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

4.7 Determinações ósseas

O fêmur e a tíbia foram expostos após a eutanásia dos animais, desarticulados, removidos, limpos dos tecidos moles circundantes, lavados com soro fisiológico e congelados. Posteriormente, os ossos foram carbonizados em bico de Bunsen e em seguida, calcinados em mufla à 600°C até cinzas claras (aproximadamente 12 h). A investigação de cálcio e fósforo nos ossos foi realizada em laboratório especializado Biominerais na cidade de Campinas, SP. O método utilizado pelo referido laboratório foi Espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICAP 6300 – Thermo Scientific). Utilizou-se como fonte de excitação de plasma de argônio à alta temperatura (7.000 – 10.000 K) para produzir, em uma amostra introduzida sob forma de neblina no centro do plasma, átomos excitados que emitem radiação em comprimentos de onda na faixa de 125 a 950 nm, característicos dos elementos nela presentes. As radiações emitidas, após conveniente separação de seus comprimentos de onda por sistemas ópticos, têm suas intensidades respectivas medidas por meios de detectores de radiação específicos e correlacionadas às concentrações correspondentes através de curvas de calibração obtidas pela medição prévia de Padões Certificados de Referência (CRM – Certificate Reference Material). Essa técnica é também conhecida como ICP – OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry), em português, Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (IMETRO, 2007; RIBEIRO, 2002).

4.8 Análise estatística

Foi utilizada inicialmente estatística descritiva, onde as variáveis quantitativas foram descritas por meio de média, desvio-padrão e mediana.

A distribuição das variáveis quantitativas foi verificada por meio da análise dos valores de curtose e assimetria e, na sequência, por meio dos Testes de Normalidade de Shapiro-Wilk e Kolmogorov e Smirnov.

As variáveis quantitativas referentes aos dois tipos de dietas utilizadas no estudo foram comparadas por meio do Teste-T para amostras independentes, quando apresentaram distribuição normal e, por meio do Teste de Mann-Whitney, quando apresentaram distribuição não normal.

As variáveis quantitativas dos quatro grupos de animais do estudo foram comparadas por meio da Análise de Variância (ANOVA), quando apresentaram distribuição normal e, por meio do Teste de Kruskal-Wallis, quando apresentaram distribuição não normal.

Todas as análises foram realizadas com auxílio do Programa Estatístico SPSS versão 22.0, com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da dieta

A Tabela 3 apresenta a descrição da composição centesimal e de minerais (cálcio, sódio, potássio e fósforo) das dietas fornecidas aos animais durante os 60 dias de estudo. Apresenta ainda, a comparação da composição centesimal e de minerais entre a Dieta S/P (Dieta Controle S/P) e Dieta acrescida com 7,5% de PDX (Dieta Experimental PDX). Foi observada diferença estatística significativa apenas entre os valores de umidade e cinzas. No mais a composição das duas se mostrou semelhante.

TABELA 3. DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E DO CONTEÚDO DE MINERAIS DA DIETA FORNECIDA AOS ANIMAIS DURANTE 8 (OITO) SEMANAS DE ESTUDO

	Dieta S/P	Dieta PDX	Valor de p
	Média (DP)	Média (DP)	
Umidade*	9,11 (0,36)	9,88 (0,26)	0,016
Cinzas*	3,03 (0,17)	2,81 (0,55)	0,002
Carboidratos*	73,42 (1,36)	72,91 (0,50)	0,523
Proteínas*	9,55 (0,24)	9,52 (0,30)	0,875
Lipídeos*	4,89 (0,90)	4,89 (0,70)	0,998
Valor calórico*(kcal/100g)	375,89 (3,18)	373,69 (3,72)	0,407
Cálcio*(mg/g)	8,64 (NA)	7,55 (NA)	NA
Sódio*(mg/g)	7,14 (0,12)	7,04 (0,16)	0,577
Potássio*(mg/g)	18,63 (0,83)	18,54 (0,20)	0,895
Fósforo**(mg/g)	50,51 (7,61)	49,64 (7,39)	0,248

Composição centesimal (g/100g) das dietas experimentais formuladas de acordo com a AIN-93M (REEVES; NIELSON; FAHEY JR, 1993).

Notas: DP = desvio-padrão; p= valor estatístico de teste; NA = não se aplica – devido ao fato do dado ter único valor para análise (realização de apenas uma análise, sem duplicata)

*Variáveis com distribuição normal, analisadas por meio do Teste-T para amostras independentes, nível de significância de 5%

**Variável com distribuição não normal, analisada por meio do Teste de Mann-Whitney, com nível de significância de 5%

5.2 Avaliação do peso

5.2.1 Comparação do ganho de peso entre os grupos

Foram observadas diferenças estatísticas significantes entre os quatro grupos de estudo, em relação às variáveis, ganho de peso total e ao dia ($p < 0,005$), sendo

que essas diferenças foram encontradas entre o grupo SHAM PDX e grupo GXT S/P e, entre o grupo SHAM S/P e grupo GXT S/P, demonstrando maior ganho de peso total e ganho de peso ao dia dos animais do grupo SHAM PDX e SHAM S/P em relação ao grupo GXT S/P. O grupo SHAM S/P foi o que ganhou maior peso ao dia em relação aos outros grupos. O grupo GXT S/P ganhou menor peso estatisticamente quando comparado ao ganho de peso em relação aos dos grupos SHAM (S/P e PDX) ($p < 0,05$), todavia, quando comparado ao grupo GXT PDX não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$). Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre o ganho de peso do grupo GXT PDX em relação aos grupos SHAM (PDX e S/P).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os quatro grupos em relação às variáveis, peso inicial (gramas) e peso final (gramas). Conforme demonstrado na Tabela 4.

TABELA 4. DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DO GANHO DE PESO ENTRE OS GRUPOS DE ANIMAIS DO ESTUDO

	Grupos de estudo				Valor p*
	SHAM PDX	SHAM S/P	GXT PDX	GXT S/P	
	n=9 Média (DP)	n=8 Média (DP)	n=8 Média (DP)	n=9 Média (DP)	
Peso inicial (g)	258,33 (40,33)	266,50 (28,24)	267,63 (48,47)	282,50 (32,38)	0,602
Peso final (g)	396,00 (46,04)	414,50 (23,04)	384,25 (61,36)	376,78 (41,14)	0,359
Ganho peso total (g)	137,67 (18,88)	148,00 (29,87)	116,63 (45,96)	73,24 (27,37)	0,007^a
Ganho de peso (g/dia)	2,29 (0,31)	2,47 (0,50)	1,94 (0,77)	1,57 (0,46)	0,007^b

Notas: g = gramas; g/dia = gramas por dia; p = valor estatístico do teste; SHAM PDX = grupo de animais falso operados com dieta à base de polidextrose a 7,5%; SHAM S/P = grupo de animais falso operados com dieta sem polidextrose; GXT PDX = grupo de animais gastrectomizados com dieta à base de polidextrose a 7,5%; GXT S/P = grupo de animais gastrectomizados com dieta sem polidextrose

*Variáveis com distribuição normal, analisadas por meio da Análise de Variância – ANOVA, nível de significância de 5%

^aPor meio do teste Pos-Hoc de Tukey, foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos SHAM PDX e GXT S/P ($p=0,032$) e entre o grupo SHAM S/P e GXT S/P ($p=0,008$); ^bPor meio do teste Pos-Hoc de Tukey, foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos SHAM PDX e GXT S/P ($p=0,032$) e entre o grupo SHAM S/P e GXT S/P ($p=0,008$)

5.3 Comparação do consumo de dieta

Comparando o consumo médio de dieta fornecida aos animais, por grupo do delineamento experimental, foram observadas diferenças significantes nas semanas 3, 6, 7 e 8. Na semana 3 houve diferença no consumo médio de dieta entre os

grupos SHAM PDX e SHAM S/P, SHAM S/P e GXT PDX e SHAM S/P e GXT S/P, com maior consumo no grupo SHAM S/P em relação aos demais ($p=0,001$). Na semana 6 houve maior consumo de dieta no grupo SHAM S/P em relação ao grupo GXT PDX ($p=0,002$). Na semana 7 houve maior consumo de dieta no grupo SHAM S/P em relação aos grupos SHAM PDX e GXT PDX ($p=0,003$). E na semana 8 o grupo SHAM PDX apresentou maior consumo de dieta em relação ao grupo GXT PDX ($p=0,045$). Esses dados podem ser observados na Tabela 5.

TABELA 5. DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DO CONSUMO MÉDIO DE DIETA FORNECIDA ENTRE OS GRUPOS DE ANIMAIS DO ESTUDO

Semanas de estudo	Grupos de estudo				Valor p*
	SHAM PDX	SHAM S/P	GXT PDX	GXT S/P	
	n=9 Média (DP)	n=8 Média (DP)	n=8 Média (DP)	n=9 Média (DP)	
1	18,83 (2,20)	18,73 (2,04)	17,46 (2,07)	20,23 (1,63)	0,061
2	18,94 (3,30)	21,72 (1,93)	19,74 (1,20)	19,98 (2,52)	0,140
3	17,98 (1,47)	21,52 (2,19)	17,89 (1,90)	18,51 (1,81)	0,001^a
4	20,58 (3,12)	19,68 (3,04)	17,51 (3,72)	19,90 (1,61)	0,192
5	18,87 (2,18)	20,44 (1,85)	18,14 (1,06)	18,99 (2,05)	0,115
6	18,54 (1,47)	20,40 (0,72)	17,26 (0,90)	18,87 (2,18)	0,002^b
7	18,22 (1,96)	20,81 (1,60)	17,77 (1,04)	19,44 (1,70)	0,003^c
8	21,02 (1,67)	20,88 (3,77)	18,34 (0,48)	19,48 (1,03)	0,045^d

Notas: g = gramas; DP = desvio-padrão/ p = valor estatístico de teste; SHAM 7,5% = grupo de animais falso operados com dieta à base de polidextrose a 7,5%; SHAM S/P = grupo de animais falso operados com dieta sem polidextrose; GXT PDX = grupo de animais gastrectomizados com dieta à base de polidextrose a 7,5%; G S/P = grupo de animais gastrectomizados com dieta sem polidextrose
*Variáveis com distribuição normal, analisadas por meio da Análise de Variância – ANOVA, nível de significância de 5%

Por meio do Teste Pos-Hoc de Tukey, nível de significância de 5%, foram encontradas diferenças entre os seguintes grupos: ^aSHAM PDX e SHAM S/P ($p=0,002$), SHAM S/P e G PDX ($p=0,002$), SHAM S/P e G S/P ($p=0,011$); ^bSHAM S/P e GXT PDX ($p=0,001$); ^cSHAM PDX e SHAM S/P ($p=0,013$) e SHAM S/P e GXT PDX ($p=0,004$); ^dSHAM PDX e GXT PDX ($p=0,061$)

5.4 Comparação entre marcadores bioquímicos séricos

Na tabela 6 estão apresentados os parâmetros bioquímicos séricos analisados no estudo, bem como a comparação desses parâmetros entre os grupos do delineamento experimental. Foram observadas diferenças significantes entre os grupos na concentração sérica de cálcio ($p=0,002$), fósforo ($p=0,004$) e fosfatase alcalina ($p=0,024$). Para os minerais cálcio e fósforo, foi observado que os grupos

SHAM PDX e GXT PDX apresentaram maiores médias nas concentrações séricas em relação ao grupo GXT S/P ($p < 0,05$). O grupo GXT S/P foi o que apresentou menor média no nível de fósforo sérico ($p = 0,004$). Em relação à fosfatase o grupo G PDX apresentou maior média no nível sérico em relação ao grupo SHAM PDX ($p = 0,024$). Em relação aos demais parâmetros bioquímicos não houve diferença significativa entre os grupos.

TABELA 6. DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO

Parâmetros séricos analisados	Grupos de estudo				Valor p^*
	SHAM PDX	SHAM S/P	GXT PDX	GXT S/P	
	n=9 Média (DP)	n=8 Média (DP)	n=8 Média (DP)	n=9 Média (DP)	
Cálcio (mg/dL)	8,16 (1,17)	6,80 (1,76)	7,20 (1,65)	5,15 (1,21)	0,002^a
Fósforo (mg/dL)	5,30 (1,09)	4,89 (1,42)	5,78 (0,81)	3,64 (1,10)	0,004^b
Fosfatase alcalina (U/L)	31,93 (7,44)	33,87 (7,04)	46,12 (9,70)	38,11 (11,94)	0,024^c
Osteocalcina (ng/mL)	31,93 (7,44)	36,17 (7,43)	29,04 (10,24)	29,99 (12,10)	0,463
Proteínas totais (g/dL)	4,39 (0,74)	3,75 (1,07)	4,40 (1,05)	3,32 (0,92)	0,074
Albumina (g/dL)	2,86 (0,45)	2,56 (0,65)	2,83 (0,71)	2,09 (0,66)	0,057^d
Globulina (g/dL)	1,52 (0,45)	1,19 (0,52)	1,56 (0,40)	1,23 (0,43)	0,239

Notas: DP = desvio-padrão/ p = valor estatístico de teste; SHAM PDX = grupo de animais falso operados com dieta à base de polidextrose a 7,5%; SHAM S/P = grupo de animais falso operados com dieta sem polidextrose; GXT PDX = grupo de animais gastrectomizados com dieta à base de polidextrose a 7,5%; GXT S/P = grupo de animais gastrectomizados com dieta sem polidextrose

*Variáveis com distribuição normal, analisadas por meio da Análise de Variância – ANOVA, nível de significância de 5%

Por meio do Teste Pos-Hoc de Tukey, nível de significância de 5%, foram encontradas diferenças entre os seguintes grupos: ^aSHAM PDX e G S/P ($p = 0,001$), GXT PDX e G S/P ($p = 0,035$); ^bSHAM PDX e GXT S/P ($p = 0,025$), GXT PDX e G S/P ($p = 0,003$); ^cSHAM PDX e GXT PDX ($p = 0,024$); e ^dtendência estatística a diferença entre o grupo SHAM PDX e GXT S/P ($p = 0,076$) e GXT PDX e GXT S/P (0,092)

5.5 Comparação da concentração dos teores de cálcio e fósforo ósseo

A Tabela 7 apresenta os dados de parâmetros ósseos analisados nos animais do estudo. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de animais do estudo em relação ao peso da tíbia direita (gramas), peso do fêmur direito (gramas), teor de cálcio e fósforo no osso.

TABELA 7. DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS TEORES DE CÁLCIO E FÓSFORO ÓSSEO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO

Parâmetros ósseos analisados	Grupos de estudo				Valor p*
	SHAM PDX	SHAM S/P	GXT PDX	G S/P	
	n=9 Média – DP	n=8 Média – DP	n=8 Média – DP	n=9 Média – DP	
Tíbia direita – peso médio (g)	0,62 (0,10)	0,61 (0,04)	0,57 (0,10)	0,57 (0,09)	0,456
Fêmur direito – peso médio (g)	0,78 (0,06)	0,81 (0,05)	0,76 (0,11)	0,74 (0,05)	0,358
Cálcio (mg/g de osso)	21,74 (1,24)	21,01 (1,07)	22,01 (1,17)	22,10 (0,97)	0,211
Fósforo (mg/g de osso)	11,78 (0,61)	11,71 (0,55)	11,99 (0,53)	12,13 (0,54)	0,393

Notas: g = gramas; DP = desvio-padrão; p = valor estatístico de teste; SHAM PDX = grupo de animais falso operados com dieta à base de povidexose a 7,5%; SHAM S/P = grupo de animais falso operados com dieta sem povidexose; GXT PDX = grupo de animais gastrectomizados com dieta à base de povidexose a 7,5%; GXT S/P = grupo de animais gastrectomizados com dieta sem povidexose

*Variáveis com distribuição normal, analisadas por meio da Análise de Variância – ANOVA, nível de significância de 5%

5.6 Comparação dos parâmetros cecais

A Tabela 8 apresenta os valores descritivos e comparativos dos parâmetros cecais analisados nos animais do estudo. Foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, em relação às variáveis, peso da parede do ceco (gramas) $p < 0,001$, ácido graxo acético $p = 0,022$, e ácido graxo propiônico $p = 0,038$. Em relação ao peso cecal (gramas), o grupo GXT PDX apresentou o maior valor ($p < 0,05$). Quanto aos ácidos graxos, acético e propiônico, o grupo GXT S/P apresentou maiores quantidades em relação ao grupo SHAM PDX ($p = 0,016$ e $p = 0,06$, respectivamente).

Houve também uma tendência estatística a diferença entre os grupos em relação à variável pH cecal ($p = 0,064$), onde o grupo GXT PDX apresentou menor valor dessa variável em relação ao grupo SHAM S/P ($p = 0,05$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos do delineamento experimental, em relação às variáveis: peso das fezes úmidas e secas, e ácidos graxos isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, isocapróico, capróico e heptanóico.

TABELA 8. DESCRIÇÃO E COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS CECALIS ANALISADOS ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO

Parâmetros cecais analisados	Grupos de estudo				Valor p
	SHAM PDX	SHAM S/P	GXT PDX	GXT S/P	
	n=9	n=8	n=8	n=9	
	Média – DP	Média – DP	Média – DP	Média – DP	
Ceco – peso médio (g)**	0,77 (0,23)	0,47 (0,04)	0,99 (0,28)	0,53 (0,30)	<0,001^a
pH médio*	6,66 (0,31)	6,99 (0,39)	6,48 (0,33)	6,61 (0,44)	0,064^b
Fezes úmidas – peso médio (g)*	2,54 (0,47)	1,52 (0,52)	1,42 (0,84)	1,28 (0,47)	0,111
Fezes secas – peso médio (g)*	1,68 (0,03)	0,90 (0,27)	1,16 (0,66)	0,89 (0,33)	0,124
Ácidos graxos					
Ácido acético (mM)*	1,57 (1,53)	2,19 (0,97)	2,83 (0,68)	3,73 (2,02)	0,022^c
Ácido propiônico (mM)*	0,46 (0,50)	0,53 (0,26)	0,89 (0,30)	1,01 (0,59)	0,038^d
Ácido isobutírico (mM)**	0,12 (0,11)	0,07 (0,06)	0,10 (0,13)	0,11 (0,14)	0,700
Ácido butírico (mM)*	0,72 (0,53)	0,47 (0,39)	0,53 (0,29)	0,73 (0,33)	0,397
Ácido isovalérico (mM)*	0,13 (0,12)	0,09 (0,06)	0,17 (0,08)	0,17 (0,07)	0,188
Ácido valérico (mM)**	0,17 (0,15)	0,13 (0,11)	0,13 (0,06)	0,15 (0,06)	0,667
Ácido isocapróico (mM)**	0,09 (0,08)	0,06 (0,07)	0,02 (0,03)	0,05 (0,04)	0,333
Ácido capróico (mM)*	0,27 (0,20)	0,19 (0,15)	0,15 (0,11)	0,22 (0,17)	0,503
Ácido heptanóico (mM)**	0,10 (0,08)	0,08 (0,06)	0,04 (0,06)	0,06 (0,08)	0,155

Notas: g = gramas; DP = desvio-padrão; p= valor estatístico de teste; SHAM PDX = grupo de animais falso operados com dieta à base de povidexose a 7,5%; SHAM S/P = grupo de animais falso operados com dieta sem povidexose; GXT PDX = grupo de animais gastrectomizados com dieta à base de povidexose a 7,5%; GTX S/P = grupo de animais gastrectomizados com dieta sem povidexose

Grupo SHAM S/P apresentou n=7 para a análise da variável, ácido graxo capróico; Todos os grupos de estudo apresentaram n=3 para a análise das variáveis, peso úmido e seco das fezes

*Variáveis com distribuição normal, analisadas por meio da Análise de Variância – ANOVA, nível de significância de 5%; **Variáveis com distribuição não normal, analisadas por meio do Teste de Kruskal-Wallis, nível de significância de 5%

Por meio do Teste Pos-Hoc de Tukey, nível de significância de 5%, foram encontradas diferenças entre os seguintes grupos: ^aSHAM S/P e GXT PDX (p=0,05); ^bSHAM PDX e SHAM S/P (p=0,001), SHAM PDX e GXT PDX (p<0,001), SHAM S/P e GXT PDX (p<0,001), SHAM S/P e GXT S/P (p=0,002) e GXT PDX e GXT S/P (p=0,005); ^cSHAM PDX e GXT S/P (p=0,016); ^dSHAM PDX e GXT S/P (p=0,06)

6 DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, no que se refere às dietas oferecidas aos animais, observou-se diferença estatisticamente significativa somente no teor de cinzas e umidade da dieta sem PDX e dieta experimental com PDX. É capaz de ser justificado por meio do processo de fabricação das rações, onde a dieta controle AIN-93M sem o prebiótico (PDX) mantém a celulose em sua fórmula e para a modificação da ração com a polidextrose, por ser uma fibra solúvel, requer adição de mais água para chegar ao ponto de massa para peletização da ração e posterior secagem em estufas conforme a metodologia (REEVES *et al.*, 1993).

As dietas enunciaram semelhanças em macronutrientes e, micronutrientes como cálcio, sódio, potássio e fósforo. Essas características de homogenia nutricional entre elas versam a importância de manter a qualidade e quantidade em nutrientes quando se faz uso de suplementação de compostos ou complementos alimentares em dietas para estudos experimentais com animais como este, ou com pesquisas clínicas como pacientes.

Os animais dos 4 grupos aceitaram bem a dieta, não apresentaram diferenças no comportamento alimentar durante o experimento. Sendo pertinente salientar que fizemos um teste preliminar com duas concentrações de PDX, uma dieta contendo 7,5% e outra 10% de PDX, entretanto a última não foi bem aceita pelos animais, pois apresentaram diarreia. Uma explicação plausível seria que, o prebiótico utilizado nesse percentual não estaria completamente fermentado no cólon, o que poderia ter propiciado tal intolerância. A literatura mostra que, a taxa, grau de fermentação e acidez podem variar com o tipo e concentração de polissacarídeo (SLAVIN, 2013; WEISSTAUB *et al.*, 2013).

Os quatro grupos experimentais tiveram ganho de peso satisfatório tanto nas variáveis, ganho de peso total e ao dia, sendo que os dois grupos falso operados (SHAM PDX e SHAM S/P) que tiveram a capacidade gástrica preservada, suplementados ou não tiveram ganho de peso mais satisfatório, não passaram pelo estresse cirúrgico da gastrectomia, ou nenhum outro processo desabsortivo. Mas o grupo SHAM PDX se manteve com ganho de peso menor ao SHAM S/P, isso pode estar relacionado ao efeito sacietogênico da PDX.

O fato de não haver diferença significativa entre os grupos no peso inicial do experimento tampouco ao final é um ponto relevante, pois sugere-se que assim

como eles iniciaram o estudo com peso satisfatório para o evento cirúrgico, mantiveram de ganho de peso linear ao longo do experimento. Foi observado no grupo GXT PDX ganho de peso similar aos dos grupos SHAM PDX e SHAM S/P e, sugere-se que pode ter ocorrido ao fato da ação prebiótica da PDX na modulação intestinal sob fermentação colônica e aumento da absorção do sítio de absorção de minerais, diminuindo as possíveis deficiências nutricionais causadas pela gastrectomia parcial associada a vagotomia troncular anterior. Acredita-se que, a PDX pode ter influenciado na absorção de macronutrientes, principalmente os carboidratos, reduzindo o tempo de esvaziamento gástrico, assim como ocorre em outras fibras solúveis (RÖYTIÖ, 2006; GIJS *et al.*, 2013).

O menor ganho de peso do grupo GXT S/P pode estar relacionado ao quadro de disbiose causada pela gastrectomia. Complicações referentes à microbiota intestinal incluem a menor secreção de ácido gástrico, que podem favorecer a hiperproliferação bacteriana, dismotilidade intestinal, e deslocamento de bactérias típicas do intestino delgado para o intestino grosso (ZHANG *et al.*, 2009).

Com relação ao consumo de dieta, houve diferença entre os grupos de estudo nas semanas 3, 6, 7 e 8, prevalendo um maior consumo no grupo SHAM S/P aos demais. As diferenças foram evidenciadas entre os grupos SHAM PDX e SHAM S/P; SHAM S/P e GXT PDX e SHAM S/P e GXT Controle. Na semana 6 houve maior consumo de dieta nos animais do grupo SHAM S/P em relação ao grupo GXT PDX. Não houve diferença entre os grupos GXT S/P e GXT PDX. Somente na 8ª semana onde o grupo SHAM PDX teve um maior consumo, estes resultados foram semelhantes a outras pesquisas onde os grupos suplementados com prebióticos tiveram consumo menor de ração Santos *et al.*, (2010), estudo semelhante que avaliou a influência de prebióticos sob animais gastrectomizados e foram encontrados resultados semelhantes em relação ao consumo alimentar do grupo falso operados.

O fato dos animais que fizeram parte do SHAM PDX com menor consumo de ração, acredita-se que devido ao efeito sacietogênico associado à polidextrose, pois uma das características das fibras solúveis é garantir um aumento na sensação de saciedade e diminuir uma ingestão alimentar (OLLI *et al.*, 2015). Os efeitos da saciedade dependem do tipo de fibra específica, propriedades físicas e fatores fisiológicos intestinais (SLAVIN, 2013; KRISTENSEN *et al.*, 2012). Esses resultados

coincidem com os de ganho de peso pois o grupo SHAM S/P teve um maior consumo de ração na maior parte do experimento e maior ganho de peso.

O intestino é um órgão que atua como um canal pelo qual o meio ambiente e seus componentes, incluindo nutrientes, drogas e toxinas, podem interagir com células humanas. Sabe-se que as bactérias intestinais estão envolvidas na produção de vitaminas B e K, bem como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), um combustível importante para células intestinais. O consumo dietético de certos produtos alimentares pode resultar em alterações estatisticamente significativas na composição da microbiota intestinal, em consonância com o conceito pré-biótico. O aumento de bifidobactérias, podem ser consideradas como um marcador da saúde intestinal (ROBERFROID, 2007). Isto melhora concomitantemente a qualidade das fezes (pH, AGCC, frequência e consistência), reduz o risco de gastroenterites e infecções, melhora o bem-estar geral e limita a incidência de sintomas alérgicos, como o eczema atópico. Alterações na composição da microbiota intestinal são classicamente apontadas como um dos muitos fatores envolvidos na patogênese da doença inflamatória intestinal ou da síndrome do intestino irritável. (ROBERFROID *et al.*, 2010).

Estudos com ratos *germ free* demonstram que a microbiota além de modular o metabolismo do hospedeiro e o desenvolvimento do estado imunológico, pode ser um regulador da massa óssea e propõe que o efeito inibitório da mesma na massa óssea seja mediado pelo sistema imunológico, que por sua vez regula a reabsorção óssea. Os ratos *germ free* apresentaram expressão reduzida de citocinas inflamatórias no osso e medula óssea em comparação com ratos convencionais. As evidências foram de um mecanismo envolvendo estado imunológico alterado no osso e, portanto, afetou a reabsorção óssea (SJOGREN, 2012; COX, 2014).

Em relação aos níveis séricos deste estudo, foram observadas, diferenças significantes entre os parâmetros nos quatro grupos de cálcio ($p=0,002$); fósforo ($p=0,004$) e fosfatase alcalina ($p=0,024$). No tocante ao cálcio e fósforo os grupos SHAM PDX e GXT PDX apresentaram maiores médias em relação ao grupo GXT S/P, sugerindo o efeito benéfico da PDX manter os níveis séricos superiores nos animais suplementados. Supostamente devido a PDX ser resistente a hidrólise pelas enzimas digestivas com baixa produção de gás ao ser fermentada pela microbiota no cólon intestinal (ROBERFROID *et al.*, 2010; BOLER *et al.*, 2011). Os níveis séricos de cálcio com as maiores médias nos dois grupos suplementados com a

PDX sugere-se o efeito benéfico do prebiótico na prevenção da redução dos níveis séricos do mineral e posterior mobilização do mesmo pelo osso e, podem que os níveis no sangue estão regulados. As fibras solúveis estão sendo constantemente estudadas pelo seu possível potencial em melhorar a saúde óssea e em grande parte pela melhoria na absorção de minerais (WEISSTAUB, 2013; SCHOLZ-AHRENS, 2007).

Sendo o osso o principal local de armazenamento de cálcio no organismo e sofrendo adaptações quanto à sua constituição, serve de reserva metabólica de cálcio e fósforo, os quais podem ser mobilizados durante situações de depleção. As concentrações adequadas de cálcio no sangue são fundamentais para a manutenção da integridade estrutural do osso (CARDOSO, 2006; WHISNER, 2017). Associado a este resultado, o nível de fosfatase alcalina se mostrou maior no grupo dos animais GXT PDX, enzima esta com importância na precipitação de cálcio e fósforo entre as fibras colágenas durante a formação óssea, deste modo, envolvida na mineralização da matriz óssea (BREUR *et al.*, 2004).

Neste estudo, os resultados nos ossos sugerem que, a suplementação prebiótica de PDX teve efeitos protetores nos teores de minerais estudados nos ossos, uma vez que não houve redução no peso da tíbia e fêmur dos grupos GXT e, sugeriu preservação no teor de cálcio e fósforo nos grupos GXT em relação aos grupos SHAM. OHTA *et al.* (1998) testaram 7,5% de frutooligossacarídeos (FOS) em dietas para ratos gastrectomizados e notaram que os teores de Ca e P do fêmur e da tíbia dos ratos aumentaram. Já Takahara *et al.* (1999) avaliaram os efeitos de 5% de FOS em dietas para ratos e constataram um aumento nos volumes do fêmur e do osso trabecular do fêmur e da tíbia, no teor de P na diáfise e metáfise e no teor de Ca na epífise, diáfise e metáfise. Esses relatos evidenciam a melhor mineralização de ossos em animais alimentados com oligossacarídeos não digeríveis. Um estudo demonstrou que o FOS estimula também absorção transcelular de Ca no intestino grosso, como indicado pela maior concentração de calbidina-D9k, uma proteína carreadora de Ca que desempenha importante papel no transporte de Ca intestinal (TUNGLAND e MEYER, 2002).

Seria plausível que alterações nos teores de minerais ósseos aparecessem com um tempo superior ao que aconteceu de 8 semanas neste estudo, ou avaliar uma concentração de PDX menor que 7,5% aliada a Espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado a Densitometria óssea de dupla

energia. Avaliando além dos teores de minerais ósseos, a densidade mineral óssea, conteúdo mineral ósseo.

Os ratos são bons modelos para avaliar os benefícios do consumo de prebióticos, devido as suas características biológicas e seu metabolismo aumentado em relação ao homem, pois a vida útil mais curta deles permite estudos de eficácia em longo prazo em relação aos resultados funcionais com impacto positivo na saúde óssea (COUDRAY *et al.*, 2003; WEAVER *et al.*, 2011). Autores afirmam que existe uma correspondência de 30 dias de vida do homem para cada dia de vida do rato (IANDOLI, 2000; QUINN, 2005; ROMANOVA *et al.*, 2004).

Os produtos de fermentação no intestino grosso, como os gases de hidrogênio, dióxido de carbono e os ácidos graxos de cadeia curta, principalmente (ácido acético, propiônico e butírico) são formados no intestino grosso pela microbiota e se mostram fortemente influenciadores no pH das fezes, podendo ser um fator efetivo para o aumento na absorção de cálcio (IBARRA *et al.*, 2014; WHISNER, 2014). O efeito prebiótico da polidextrose inclui uma mudança significativa na microbiota intestinal, como em sua composição, principalmente no aumento de bifidobactérias fecais, isso como consequência melhora a qualidade das fezes, reduz o risco de infecções e gastroenterites e incidência de sintomas alérgicos como dermatite atópica. A ingestão de alguns tipos de prebióticos vem sendo demonstradas em estudos em adolescentes e mulheres em menopausa, melhorando a absorção de cálcio e densidade mineral óssea (ROBERFROID, 2010; SLAVIN, 2013; LEGETTE, 2012).

Suzuki e Hara (2004) salientaram que os oligossacarídeos podem aumentar a absorção de Ca também no intestino delgado por meio de via paracelular, pelo estímulo direto sobre o epitélio do intestino delgado. Em estudos *in vitro* usando epitélio intestinal isolado de ratos, estes autores concluíram que a difrutose anidra III e IV (dissacarídeos), o frutoligossacarídeo (FOS) e o maltitol aumentaram a absorção paracelular de Ca no intestino delgado.

Estudos testaram a eficácia de diferentes tipos de prebióticos na absorção de cálcio. Em seu estudo, Coudray *et al.* (2003), usaram dietas com oligofrutose (FOS), inulina, mistura de ambos e outra dieta com inulina ramificada. Importante sublinhar que, apenas a mistura de oligofrutose e inulina evidenciou uma diferença significativa no aumento da absorção de Ca e aumento da retenção de 25% no osso.

Outras pesquisas realizadas variando tipos de prebióticos incluindo GOS, FOS/inulina (ROBERFROID *et al.* 2002; GARCÍA-VIEYRA *et al.*, 2014) e polidextrose (LEGETTE *et al.*, 2012) foram associados a melhorias na absorção de cálcio. Estudos em animais revelaram que os prebióticos tinham um efeito dependente da dose na absorção de cálcio. Fructanos de tipo inulina (até 20% da dieta) (LEVRAT *et al.*, 1991) e lactulose (5% e 10%) (BROMMAGE *et al.*, 1993) resultou em maior absorção à medida que a dose aumentou. Apesar dos resultados animadores relação à dose, estes podem variar dependendo de uma variedade de fatores, incluindo idade dos animais, condições experimentais, duração do tratamento e metodologia empregada no estudo. Coudray *et al.*, 2005 averiguou que, a absorção mineral diminui com o avanço da idade, sendo assim, os ratos que consumiram inulina, a absorção de cálcio e magnésio foi menor em 10 e 20 meses de idade em comparação com ratos de 2 e 5 meses. Todavia, a dose e o tipo de tipo de prebiótico também podem influenciar essas respostas. Outro estudo mostrou que apenas uma combinação de oligofrutose-inulina resultou significativamente aumento da absorção de cálcio (COUDRAY *et al.*, 2003; CAPRILES *et al.*, 2012).

Foi sugerido anteriormente que a polidextrose estaria envolvida no aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta e outros ácidos orgânicos, como o ácido láctico e, que os produtos de fermentação cecal, reduzindo o pH de compostos insolúveis, aumentando a absorção de cálcio por difusão passiva (MANNING, 2004; RASTALL, 2005; SANTOS, 2009). No presente estudo O pH cecal, foi mais baixo nos animais gastrectomizados suplementados com a PDX, e mais alto no grupo controle SHAM, aumentou o peso médio da parede do ceco e o peso úmido das fezes. A maior concentração de ácidos graxos de cadeia curta no grupo gastrectomizado sem suplementação especialmente o acético e propiônico sugerem que a fermentação cecal pode não estar muito envolvida no aumento da absorção de cálcio. Resultados estes corroboram de outros estudos como de Hengest *et al.*, 2009 em que demonstrou que a polidextrose incorporada ao iogurte não alterou as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta principais nas fezes, mesmo tendo o valor de pH mais baixo no grupo de intervenção supra citado.

Os principais produtos do processo fermentativo, os gases (dióxido de carbono, hidrogênio e metano), água, os ácidos graxos de cadeia curta (principalmente o ácido acético, o propiônico e o butírico) e o aumento da massa bacteriana são complexos e estão associados. A fermentação no cólon está

inversamente relacionada com a capacidade de retenção de água nas fezes (PACHECO e SGARBIERI, 2001). A quantidade e concentração excedente de carboidratos prebióticos consumida pode levar a efeitos indesejados, tais como distensão abdominal e diarreia (FLOOD *et al.*, 2004). A produção de gás da polidextrose foi comparada *in vitro* com outros carboidratos e observou-se que a cadeia curta mais rapidamente fermentada dos oligossacarídeos resultou em produção mais rápida e acumulação de gás do que os substratos com graus maiores de polimerização, como a polidextrose. Além disso, a quantidade total de gás produzido a partir da polidextrose foi substancialmente menor; isso ocorreu provavelmente devido à menor produção de H₂ (HERNOT *et al.*, 2009). Este efeito deve-se, supostamente a lenta degradação da molécula da polidextrose. Associado a isso, os oligossacarídeos de cadeia curta misturados com polidextrose tiveram uma menor taxa de produção de gás, bem como redução na produção de AGCC em comparação com os oligossacarídeos fermentados sozinhos (VESTER BOLER *et al.*, 2009), embora os efeitos neutros também tenham sido relatados (GHODDUSI *et al.*, 2007).

Foi conferido em estudos com humanos (JIE *et al.*, 2000; BOLER *et al.*, 2011) bem como em animais (PEURANEN *et al.*, 2004; FAVA *et al.*, 2007) e *in vitro* (MÄKELÄINEN *et al.*, 2007) que, os níveis de metabólitos derivados da fermentação proteica, tais como: os ácidos graxos de cadeia ramificada, amônia fecal, fenol, indol e cresol são reduzidos na presença de PDX. Sabe-se que isso ocorre na parte distal do cólon e se deve a fermentação parcial da polidextrose sobre as proteínas.

Os efeitos atribuídos aos prebióticos em vários estudos ligados à promoção do crescimento e/ou a atividade de benefícios das bactérias no sistema digestório, especialmente no aumento das bifidobactérias como um marcador de saúde intestinal e incluem aumento da solubilidade e absorção de minerais, bem como efeitos anti-inflamatórios (GIBSON, 1998; ROBERFROID, 2010). Desta forma, são importantes para pacientes gastrectomizados, pois como tratado anteriormente há evidências entre essas modalidades de cirurgias (gastrectomias totais e parciais) e deficiência de minerais (HARA *et al.*, 2000; OTHA *et al.*, 1998; KAMIJI, 2007; SANTOS, 2009). Com o uso dos prebióticos pode-se criar um equilíbrio na microbiota intestinal o “ecossistema” e manter essa “normobiose”, isto é, onde predominam microrganismos com potenciais benefícios à saúde em número no que diz respeito aos potencialmente prejudiciais, em contraste com a 'disbiose', em que

um ou poucos microrganismos potencialmente prejudiciais dominantes, criando assim uma situação propensa a doenças (ROBERFROID, 2010).

Pesquisas com maior tempo de estudo que medem a dose de combinações dois tipo de prebióticos, além de que o estudar efeito da suplementação em concentrações diferentes sobre a densidade, força e fratura óssea, usando metodologias associadas parecem ser complementares para compreensão no mecanismo de ação desse tipo de fibra solúvel.

Neste estudo, alguns condicionantes e limitações de estudo foram observadas, mas que não desqualificam as principais conclusões consolidadas. A primeira limitação foi o maior número de publicações com uso de PDX associada a outro tipo de prebiótico em ratos em relação ao uso isolado da mesma. A segunda foi o tempo de estudo que ficou em 8 semanas e, acredita-se que como estávamos estudando possíveis alterações de cálcio no sanguíneo e ósseo um tempo maior de estudo seria mais profícuo.

A PDX pode ser benéfica para estratégias no tratamento de cirurgias de redução de capacidade gástrica ou desabsortivas, pois devido ao efeito sacietogênico os pacientes ingerem uma quantidade menor de alimentos quando estes são suplementados com o prebiótico.

A fermentação da PDX modifica a composição da microbiota no cólon e tem como característica afetar o apetite e saciedade e melhorar a função gastrointestinal ou o tempo orofecal em humanos e, nos animais deste estudo. Esta fermentação mencionada em vários estudos leva a produção de AGCC, diminuição do pH e, aumento do peso das fezes, mas depende da composição da colônia microbiana.

A importância do estímulo de manter o equilíbrio do “ecossistema” intestinal, aumentando o numero de bifidobactérias, melhorando concomitantemente a qualidade das fezes, reduz o risco de gastroenterites e infecções, doença inflamatória intestinal ou da síndrome do intestino irritável, o câncer de cólon, aumentar a absorção de Ca e melhora do bem estar geral.

Pesquisas futuras ligadas a compreensão ao mecanismo de ação dos prebióticos na modulação da composição microbiota intestinal parecem ser promissoras; eles auxiliam as bactérias endógenas favorecendo em seus crescimento e metabolismo probiótico principalmente os lactobacilos e as bifidobactérias consideradas bactérias não patogênicas ou benéficas, pois desempenham atividades biológicas positivas na saúde humana.

Os resultados positivos nos grupos suplementados referentes a biodisponibilidade de cálcio poderiam ser devidos a transferência desse mineral do intestino delgado para o grosso e do efeito osmótico, o que permite mais solubilidade ao mineral. Outra razão para a melhor biodisponibilidade seria a diminuição do pH no íleo, ceco e cólon.

Estudos com concentrações e combinações entre prebióticos e também com cepas de probióticos sobre densidade, força e fratura óssea parecem ser convincentes para realizar recomendações de saúde pública.

A presente pesquisa sugere que sejam utilizados animais *germ free* para esse modelo cirúrgico e, com um tempo maior de experimento em torno de 10 a 12 semanas. Tempo esse suficiente para recuperação do estresse cirúrgico, cicatrização e estabilização do peso. Sabe-se que o custo para experimentação animal é elevado, mas para elucidar mecanismos do metabolismo, homeostase e absorção de cálcio, um tempo maior de experimento para melhores esclarecimentos.

7 CONCLUSÕES

- 1) A avaliação da composição centesimal da dieta oferecida aos animais demonstrou que, diferenciaram de forma significativa nos teores de umidade e cinzas e a avaliação macronutrientes, cálcio, sódio, potássio e fósforo mostrou semelhança entre as duas.
- 2) A comparação do ganho de peso entre os grupos experimentais mostrou que, o grupo que ganhou maior peso em relação aos outros foi o controle não suplementado e, o grupo experimental que recebeu suplementação não demonstrou diferença estatística no ganho de peso em relação aos grupos controles. Na comparação do consumo de dieta dos grupos, predominou grupo controle não suplementado, com exceção na última semana de experimento em que foi o grupo falso operado suplementado.
- 3) A medida dos níveis séricos indicou que, houve diferença entre os grupos nos minerais cálcio e fósforo, sendo que os grupos suplementados com polidextrose apresentaram maiores médias contrapondo aos não suplementados. Isso poderia indicar, que a polidextrose teve influência positiva sob os níveis destes minerais sanguíneos.
- 4) O estudo da concentração de cálcio e fósforo ósseo mostrou que, não houve diferença entre os grupos experimental e controle em relação ao peso da tíbia e fêmur direitos, tampouco quantidade mineral de cálcio e fósforo significativa óssea. Sugerindo um efeito benéfico da polidextrose na manutenção dos minerais analisados no grupo experimental suplementado.
- 5) Os parâmetros fermentativos no conteúdo cecal mostraram que, o pH cecal, foi mais baixo no grupo experimental, desta forma influenciado pela suplementação e, esta aumentou o peso médio da parede do ceco e o peso úmido das fezes.
- 6) A quantificação de ácidos graxos de cadeia curta mostrou que, houve maior concentração de ácidos graxos de cadeia curta no grupo experimental sem suplementação especialmente o acético e propiônico. Sugerindo que a fermentação cecal no cólon no grupo experimental suplementado pode não estar envolvida com a produção de ácido acético, propiônico e butírico.

REFERÊNCIAS

1. ABIB, A.R.; OLIVEIRA, I. M.; KOIFMAN, S. Histopatologia do câncer de estômago (classificação de Lauren) em amostra de pacientes hospitalares no Rio de Janeiro, 1980-1995. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 13, n.1, p. 99-104, 1997.
2. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. (Brasil). Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**. Atualizado em 11 de janeiro de 2005. VIII-Lista das Alegações Aprovadas. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecono.htm>>. Acesso em: 7 abr de 2015.
3. ALLEN, M.J. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. **Vet. Clinical Pathol.**, v. 32, n. 3, p. 101-113, 2003.
4. AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). Official methods of analysis. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.
5. AXELSON, J.; PERSSON, P.; GAGNEMO-PERSSON, R; HÅKANSON, R. Importance of the stomach in maintaining calcium homeostasis in the rat. **Gut**, v. 32, n.11, p.1298-302, 1991.
6. BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v. 35, n. 2/3, p. 125-131, 2002.
7. BIRGE, S.J.; PECK, W.A.; BERMAN, M.; WHEDON, G.P. Study of calcium absorption in man. A kinetic analysis and physiologic model. **J Clin Invest** v. 48, p. 1705-13, 1969.
8. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can J Biochem Physiol** , v. 37, n. 8, p. 911-917, Aug. 1959.
9. BOLER, B.M.; SERAO, M.C.; BAUER, L.L.; STAEGER, M.A., BOILEAU, T.W., SWANSON, K.S. AND FAHEY JR., G.C. Digestive physiological outcomes related to polydextrose and soluble maize fibre consumption by healthy adult men. **British J of Nutr**, v. 106, p. 1864-1871, 2011.
10. BORDALO, Livia Azevedo et al . Cirurgia bariátrica: como e por que suplementar. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 57, n. 1, p. 113-120, Feb. 2011 .
11. BOZZETTI, F.; MARUBINI E.; BONFANTI G.; MICELI R.; PIANO C.; CROSE N. Total versus subtotal gastrectomy: surgical morbidity and mortality rates in a multicenter Italian randomized trial. The Italian Gastrointestinal Tumor Study Group. **Ann Surg**, v. 226, p. 613-20, 1997.
12. BREUR, G.J.; ALLEN, M.J.; CARLSON, S.J.; RICHARDSON, D.C. Markers of bone metabolism in dog breeds of different size. **Res. Vet. Sci.**, v. 76, p. 53-55, 2004.
13. BROMMAGE, R.; BINACUA, C.; ANTILLE S & CARRIE ´ AL, Intestinal calcium absorption in rats is stimulated by dietary lactulose and other resistant sugars. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 2186–2194, 1993.
14. BROWN, E.M.; JUPPNER, H. **Parathyroid hormone: synthesis, secretion and action**. In: Favus MJ. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolismo. 6. ed. Filadélfia: Lippincot Williams & Wilkins; 2006; p. 90-9.

15. CAPRILES, V.D. et al. Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. **J Food Sci**, v. 73, n. 7, p. 161-164, 2008.
16. CAPRILES, V. D.; AREAS, J. A. G. Frutanos do tipo inulina e aumento da absorção de cálcio: uma revisão sistemática. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 147-159, Feb. 2012
17. CASHMAN, K.D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **Br J Nutr**, v. 87, Sup .2, p. S169-S177, 2002.
18. CARDOSO, M. J. L. Marcadores do metabolismo ósseo e homeostase do cálcio no hipertireoidismo felino. 2006. 113 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2006.
19. COMPHER, C.W.; BADELINO, K.O.; BOULLATA, J. I. Vitamina D and the Bariatric Surgical Patient: A Review. **Obes Surg**, v. 18, p. 220 – 224, 2008.
20. COUDRAY, C.; FEILLET-COUDRAY, C.; TRESSOL J.C. Stimulatory effect of inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium in rats is modulated by dietary calcium intakes. Short– and long–term balance studies. **Eur J Nutr**, v. 44, p. 293-302, 2005.
21. COUDRAY, C.; TRESSOL, J.; GUEUX, E.; RAYSSIGUIER, Y. Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. **Eur J Nutr**, v. 42, n. 2, p. 91-98, 2003.
22. COX, L.M. et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. **Cell**, v.158, p. 705–721, 2014.
23. DELMAS, P.D. Bone marker nomenclature. **Bone**, v. 28, p. 575, 2001.
24. DENIPOTE, F. G; TRINDADE, E. B. Santos de Moraes; BURINI, R. C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arq. Gastroenterol**, v. 47(1), p. 93-98, 2010.
25. DWYER, J.; HALSTED, C. H.; RUSSELL, R. M.; Nutrition. In: BRAUNWALDE, FAUCIAS, KASPER, D. L.; HAUSER, S. L.; LONGO, D. L.; JAMESON, J. L, editors. **Harrison's principles of internal medicine**. 15th ed. New York: McGraw-Hill Company; 2001, p. 451–78.
26. FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; TEUCHER, B. Calcium bioavailability in relation to bone health. **Int J Vitam Nutr Res**, v. 72, n. 1, p.13-8, 2002.
27. FAVA, F.; MÄKIVUOKKO, H.; SILJANDER-RASI, H.; PUTAALA, H.; TIIHONEN, K.; STOWELL, J.; TUOHY, K.; GIBSON, G.R. AND RAUTONEN, N. Effect of polydextrose on intestinal microbes and immune functions in pigs. **Br J Nutr**, v. 98, p. 123-133, 2007.
28. FELDMAN M. Gastric secretion in health and disease. In: SLEISENGER MH, FORDTRAN J.S., editors. **Gastrointestinal disease, pathophysiology, diagnosis, management**. 4. ed. Philadelphia: WB Saunders; 1989. p. 713-29.
29. FLOOD, M.T.; AUERBACH, M.H. AND CRAIG, S.A. A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. **Food Chem Toxicol**, v. 42, p. 1531-1542, 2004.
30. FOOD INGREDIENTS BRASIL. Probióticos, prebióticos e simbióticos. *Rev Food Ingredients Brasil*, n. 17, p. 58-65, 2011.
31. FREITAS, A. C. T. et al. Análise da margem cirúrgica proximal do estômago em pacientes submetidos à gastrectomia subtotal por adenocarcinoma. *ABCD, Arq. Bras. Cir. Dig.*, v. 21, n. 3, p.106-109, 2008.

32. FUCCIO, L.; EUSEBI, L.H.; BAZZOLI, F. Gastric cancer, *Helicobacter pylori* infection and other risk factors. **World J Gastrointest Oncol**, v.152, n. 9, p. 342-347, 2010.
33. GARCÍA-VIEYRA, M. I.; DEL REAL, A.; LÓPEZ, M. G. Agave fructans: their effect on mineral absorption and bone mineral content. **J Med Food**, v. 17, n. 11, p. 247-55, 2014.
34. GARRIDO JUNIOR, A.B.; FERRAZ, E.M.; BARROSO, F.L.; MARCHESINI J.B.; SZEGO, T. **Cirurgia da obesidade**. São Paulo: Atheneu, 2006.
35. GHODDUSI, H. B.; GRANDISON, M.A.; GRANDISON, A.S. AND TUOHY, K.M. *In vitro* study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. **Anaerobe**, v. 13, p. 193-199, 2007.
36. GIBSON, G. R. Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. **Brit J Nutr**, v. 80, Suppl. 2, p. S209-S212, 1998.
37. GIJS, B.; EUNEN, K. V.; GROEN, A. K.; VENEMA, K.; DIRK-JAN, R.; BAKKER, B. M. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **J Lipid Res**, v. 54, n. 9, p. 2325-2340, Sep. 2013.
38. GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; SHAH, N. P. Probiotic Dairy Products as Functional Foods. Comprehensive Reviews. **In Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 455-470, Aug. 2010.
39. GUÉGUEN, L.; POINTILLART, D. V. M. The bioavailability of dietary calcium. **J Am Coll Nutr**, United States, v. 19, n. 2, p. 119-136, 2000.
40. GUNDBERG, C. M.; HAUSCHKA, P. V.; LIAN, J. B.; GALLOP, P. M. Osteocalcin: isolation, characterization and detection. **Methods in Enzymology**, v. 107, p. 516- 44, 1984.
41. GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 12. ed: Guanabara Koogan, 2012, p. 1014.
42. HARA, H.; SUZUKI, T.; AOYAMA, Y. Ingestion of the soluble dietary fibre, polydextrose, increases calcium absorption and bone mineralization in normal and total-gastrectomized rats. **Br J Nutr**, v. 84, n. 5, p. 655-61, 2000.
43. HASLER, C. M. Functional Foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technol.**, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.
44. HEANEY, R. P. Calcium intake and disease and disease prevention. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 50, n. 4, p. 685-693, 2006.
45. HEANEY, R. P. Protein and calcium: antagonists or synergists? **Am J Clin Nutr**, v. 75, p. 609-610, 2002.
46. HEIMBURGER, D.C.; BISTRIAN, B. R. **Nutritional disease**. In: BENNETT, J. C., PLUM F., editors. Cecil textbook of medicine. 21st ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000, p. 11140 –78.
47. HENGST, C.; PTOK, S.; ROESSLER, A.; FECHNER, A.; JAHREIS, G. Effects of polydextrose supplementation on diferente faecal paraments in healthy volunteers, **Int J Food Sci Nutr** , v. 60, n. 5, p. 96-105, 2009.
48. HERNOT, D. C.; BOILEAU, T. W.; BAUER, L. L.; MIDDELBOS, I. S.; MURPHY, M. R.; SWANSON, K. S. AND FAHEY JR., G.C. *In vitro* fermentation profiles, gas production rates, and microbiota modulation as affected by certain fructans, galactooligosaccharides, and polydextrose. **J Agric Food Chem**, v. 57, p.1354-1361, 2009.
49. HVAS, A.M; NEXO, E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency: an update. **Haematologica**, v. 91, n. 11, p. 1506-12, 2006.

50. IANDOLI, J. D.; NIGRO, A. J. T.; SEMENTILLI, A.; JULIANO, Y.; NOVO, N. F. End-to-end esophagogastric anastomosis comparative study, between a single layer and submucosa-mucosa invagination technics: in rats. **Acta Cir Bras**, v. 15, n.1, p. 14-22, 2000.
51. IBARRA, A.; ASTURBY, N. M.; OLLI, K.; ALHONIEMI, E.; TIIHONEN, K. Effect of Polydextrose on Subjective Feelings of Appetite during the Satiation and Satiety Periods: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 8, n. 1, p. 1, Jan. 2016.
52. INMETRO. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Normalização e qualidade industrial. DOQ-CGCRE-008, 2007.
53. JIE, Z.; BANG-YAO, L.; MING-JIE, X.; HAI-WEI, L.; ZU-KANG, Z.; TING-SONG W.; CRAIG, S.A. Study on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese. **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 1503-1509, 2000.
54. **Johns Hopkins Medicine Gastroenterology & Hepatology**, 2015. Disponível em: <https://gi.jhsp.org/>. Acesso em: 05 de maio de 2017.
55. KAMIJI, M. M.; OLIVEIRA, R. B. Estado nutricional e avaliação dietética de pacientes gastrectomizados. **Arq. Gastroenterol**, v. 40, n. 2, p. 85-91, 2003.
56. KANG, I., et al. Mineral deficiency in patients who have undergone gastrectomy. **Nutrition**, v. 23, p. 318-322, 2007.
57. KAUR, N.; GUPTA, A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **J. Biosci.**, Bangalore, v. 27, p. 703-714, 2002.
58. KENNY AD. **Intestinal calcium absorption and its regulation**. Boca Raton: CRC Press. Inc., 1982.
59. KOGA, S.; NISHIMURA, O.; IWAI, N.; KISHI, K.; TAKEUCHI, T.; HINOHARA, T., et al. Clinical evaluation of long-term survival after total gastrectomy. **Am J Surg**, v. 138, n. 5, p. 635-9. 1979.
60. LANZILLOTTI, H.S.; LANZILLOTTI, R.S.; TROTTE, A.P.R.; DIAS, A.S.; BORNAND, B.; COSTA, E.A.M.M. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Rev Nutr**, v.16 n. 2, p.181-193, 2003.
61. LEE, AJ.; HODGES, JS.; EASTELL, R. Measurement of osteocalcin. **Am Clin Biochem**, v. 37, p. 432-46, 2000.
62. LEGETTE, L.L.; LEE, W.; MARTIN, B.R.; STORY, J.A.; CAMPBELL, J. K. ; WEAVER, C. M. Prebiotics Enhance Magnesium Absorption and Inulin-based Fibers Exert Chronic Effects on Calcium Utilization in a Postmenopausal Rodent Model. **J Food Sci**, v. 77, p. 88-94, 2012.
63. LETH, R.; ABRAHANSSON, H.; KILANDER, A.; LUNDELE, L. Malabsorption of fat after partial gastric resection. **Eur J Surg**, v. 57, p. 205-8, 1991.
64. LEVRAT, M.A.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. **J Nutr**, v. 121, n. 1, p. 1730–1737, 1991.
65. LIAN, J. B.; STEIN, G. S. **The cells of bone**. In: SEIBEL, M .J.; ROBINS, S. P. Bilezikian dynamics of bone and cartilage metabolismo. San Diego: Academic Press; 1999: p. 165-186.
66. LINDER, M. C. **Nutrition and Metabolism of the Major Minerals**. In: Nutrition Biochemistry and Metabolism. Califórnia: Prentice-Hall International Inc., cap. 6, p.191-213, 1991.
67. LINEBACK, D.R., **The chemistry of complex carbohydrates**. Complex Carbohydrates in Food . Marcel Dekker, Inc New York, 1999.

68. MACHI, J.; TAKEDA, J.; KAKEGAWA T. **Tumores do estômago e do duodeno**. In: Coelho JCU. Aparelho Digestivo. Clínica e Cirurgia. 3. ed. São Paulo, Editora Atheneu, 2005.
69. MÄKELÄINEN, H. S.; MÄKIVUOKKO, H. A.; SALMINEN, S. J.; RAUTONEN, N. E. AND OUWEHAND, A.C. The effects of polydextrose and xylitol on microbial community and activity in a 4-stage colon simulator. **J Food Sci**, v. 72, p. 153-159, 2007.
70. MANNING, T. S.; GIBSON, G. R. Prebiotics. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, v. 18, n. 2, p. 287-298, 2004.
71. MARCEL, B.; ROBERFROID, J.; CUMPS, J.; DEVOGELAER, J. P. Dietary Chicory Inulin Increases Whole-Body Bone Mineral Density in Growing Male Rats. **J Nutr**, v. 132, n. 12, p. 3599–3602, 2002.
72. MOIZÉ, V.; ANDREU, A.; FLORES, L.; TORRES, F.; IBARZABAI, A.; DELGADO, S.; LACY, A.; RODRIGUEZ, L.; VIDAL, J. Long-term dietary intake and nutritional deficiencies following sleeve gastrectomy or Roux-En-Y gastric bypass in a mediterranean population. **J Acad Nutr Diet**, v. 3, p. 400-410. 2013.
73. NETTO, C. C.; MIYASAKA, C. K. Fructooligosaccharides (FOS) and hormonal replacement therapy (HRT) by estrogen suppressed bone resorption in the ovariectomized rat. **J Med Biol Sci**, v. 8, n. 1, p. 33-8, 2009.
74. OHTA, A.; OHTSUKI, M.; BABA, S.; ADACHI, T.; SAKATA, T.; SAKAGUCHI, E. Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. **J Nutr**, v. 125, n. 9, p. 2417-2424, 1995.
75. OHTA, A.; OHTSUKI, M.; HOSONO, A.; ADACHI, T.; HARA, H.; SAKATA, T. Dietary fructooligosaccharides prevent osteopenia after gastrectomy in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 1, p. 106-110, 1998.
76. OLLI, K.; SALLI, K.; AALHONIEMI, E.; SAARINEN, M.; IBARRA, A.; VASANKARI, T.; RAUTONEN, N.; TIIHONEN, K. Postprandial effects of polydextrose on satiety hormone responses and subjective feelings of appetite in obese participants. **Nutr J**, v. 14, n. 2, Jan. 2015.
77. PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V.C. **Fibra e doenças gastrointestinais**. In: LAJOLO, F. M. et al. Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología Y Salud. São Paulo: Editora Varela, 2001. 469p.
78. PANSU, D.; BRONNER, F. Nutritional aspects of calcium absorption. **J Nutr**, v. 129, p. 9-12, 1999.
79. PANSU, D.; BELLATON, C.; ROCHE, C. & BRONNER, F. Duodenal and ileal calcium absorption in the rat and effects of vitamin D. **Am. J. Physiol**, v. 244, p. 695-700, 1983.
80. PAPINI-BERTO, S. J.; BURINI, R. C. Causas da desnutrição pós-gastrectomia. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 272-275, 2001.
81. PETERS, B. S. E.; MARTINI, L. A. Aspectos nutricionais na prevenção e no tratamento da osteoporose. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 54, n. 2, p. 179-185, 2010.
82. PEURANEN, S.; TIIHONEN, K.; APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; SAARINEN, M.; RAUTONEN, N. Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. **Br J Nutr**, v. 91, p. 905-914, 2004.
83. PUTAALA, B. H. Polydextrose in Lipid Metabolism. In: World's largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher. **INTECH Open Access Publisher**, 2013.

84. PRISCO, C.; LEVINE, S. N. Metabolic bone disease after gastric bypass surgery for obesity. **Am J Med Sci**, Philadelphia, v. 2, n. 329, p. 57-61, 2005.
85. QUINN, R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? **Nutrition**, n. 21, p. 775-7, 2005.
86. RASTALL, R. A.; GIBSON, G. R.; GILL, H. S.; GUARNER, F.; KLAENHAMMER, T. R.; POT, B.; REID, G.; ROWLAND, I. R.; SANDERS, M. E. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. **FEMS Microbiol Ecol**, v. 52, p. 145-152, 2005.
87. RANINEN, K.; LAPPI, J.; MYKKÄNEN, H.; POUTANEN, K. Dietary fiber type reflects physiological functionality: comparison of grain fiber, inulin, and polydextrose. **Nutr Rev**, v. 69, n. 1, p. 9-21, Jan. 2011.
88. RAUD, C. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar na análise das estratégias da danone e da nestlé no Mercado brasileiro de iogurtes. **Rev Sociol Polit**, v. 16, n. 31, p. 85-100, Nov. 2008.
89. REBOLLEDO, A.; BASI-FER, K.; ROJAS, P.; CODOCEO, J.; INOSTROZA J.; CARRASCO, F.; RUZ, M. Evolución y calidad de la alimentación de mujeres con obesidad severa y mórbida sometidas a bypass gástrico. **Arch Latinoam Nutr**, v. 50, n. 1, p. 7-13, 2009.
90. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on their formulation of the AIN-76A Rodent diet. **J Nutr**, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, Novembro 1993.
91. RIBEIRO, A. S.; ZEZZI, M. A.; CADORES, A. S.. Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio. Uma revisão crítica. **Quim Nova**, v. 25, n. 3, p. 396-405, 2002.
92. ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 6, p. 1682-1687, 2000.
93. ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Diseases**, v. 34, suppl. 2, p. 105-110, Sep. 2002.
94. ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; HOYLES, L.; MCCARTNEY, A. L.; RASTALL, R.; ROWLAND, I.; WOLVERS, D.; WATZL, B.; SZAJEWSKA, H.; STAHL, B.; GUARNER, F.; RESPONDEK, F.; WHELAN, K.; COXAM, V.; DAVICCO, M. J.; LÉOTOING, L.; WITTRANT, Y.; DELZENNE, N. M.; CANI, P. D.; NEYRINCK, A. M.; MEHEUST, A. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **Br J Nutr**, v. 104, S1, p. 63, Aug. 2010.
95. ROBERFROID, M. & BUDDINGTON, R.K. Inulin and oligofructose: proven health benefits and claims. **J Nutr**, v. 137, p. S2489-S2597, 2007.
96. ROMANOVA, I. V.; RAMOS, E. J.; XU, Y.; QUIN, R.; CHEN, C.; GEORGE, Z. M. Neurobiological changes in the hypothalamus associated with weight loss after gastric bypass. **J Am Coll Surg**, v. 199, p. 887-95, 2004.
97. RÖYTIÖ, H.; OUWEHAND, A.C. The fermentation of polydextrose in the large intestine and its beneficial effects. **Benefic Microbes**, v. 5, p. 305-314, 2014.
98. SAAD, S. M. I. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. **Braz. J. Pharm**, v. 42, n. 1, p. 1-16, Jan./Mar. 2006.
99. SANTOS, E. F.; TSUBOI, K. H.; ARAÚJO, M. R.; OUWEHAND, A. C.; ANDREOLLO, N. A.; MIYASAKA, C. K. Dietary polydextrose increases calcium absorption in normal rats. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v. 22, n. 4, p. 201-205, 2009.
100. SANTOS, E. F.; TSUBOI, K. H.; ARAÚJO, M. R.; FALCONI, M. A.; OUWEHAND, A. C.; ANDREOLLO, N. A.; MIYASAKA, C. K. Ingestion of

- polydextrose increase the iron absorption in rats submitted to partial gastrectomy. **Act Cir Bras**, v. 25, n. 6, p. 518–524, Nov./Dec. 2010.
101. SANTOS, E. F. **Avaliação do efeito da suplementação de polidextrose no metabolismo de ferro, na morfologia do intestino, e alterações hepáticas após derivação jejuno-ileal.** Estudo experimental. Tese (Doutorado). Campinas, SP: 2011a.
 102. SANTOS, E. F. **Efeitos da suplementação de galactooligosacarídeo e polidextrose sobre a absorção de cálcio e ferro em ratos gastrectomizados.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP: 2007.
 103. SANTOS, E. F. et al. Influência da dieta com galactooligosacarídeos sobre a absorção de cálcio em ratos normais e gastrectomizados. **Ver Col Bras Cir**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 3, p. 186-191, jun. 2011b.
 104. SARAIVA, G. L.; LAZARETTI-CASTRO, M. Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 46, n. 1, 2002.
 105. SCHÖLMERICH, J. Postgastrectomy syndromes – diagnosis and treatment. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, London, v. 18, n. 5, p. 917-933, 2004.
 106. SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Inulin and Oligofructose and Mineral Metabolism: The Evidence from Animal Trials. **J Nutr**. American Society for Nutrition, v. 137, n. 11, p. 2513-2523, 2007.
 107. SIEWERT, J.R.; HOFER, H.; FINK, U.; MUELLER, J.; SENDLER, A.; MOLLS, M.; BECKER, K.; NEKARDA, H.; BOTTCHE, K.; RÖDER, J. D.; FELDMAN, H. J.; STEIN, H. J. **Curr Probl Surg**, v. 43, p. 566-670, 2006.
 108. SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v.5, p. 1417-1435, 2013.
 109. SJÖGREN, K.; ENGDAHL, C.; HENNING, P.; LERNER, U. H.; TREMAROLI, V.; LAGERQUIST, M. K.; BÄCKHED, F.; OHLSSON, C. The gut microbiota regulates bone mass in mice. **J Bone Miner Res**, v. 27, p. 1357-1367, 2012.
 110. STEFE, C. de A.; ALVES, M. I. R.; RIBEIRO, R. L. PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS – ARTIGO DE REVISÃO. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v.3, n.1, p.16-33, 2008.
 111. SUZUKI, T.; HARA, H. Various non digestible saccarides increase intracellular calcium ion concentration in rat small intestinal enterocytes. **Br J Nutr**, v. 92, n. 5, p. 751-755, 2004.
 112. TAKAHARA, S.; MOROHASHI, T.; SANO, T.; OHTA, A.; YAMADA, S.; SASA, R. Fructooligosaccharide consumption enhances femoral bone volume and mineral concentrations in rats. **J Nutr**, v. 130, n. 7, p. 1792- 1795, 1999.
 113. TONETO, M. G.; SEHN, A. de A.; LISOT, B. C.; LOPES, M. H. I. História do tratamento do câncer gástrico: os pioneiros, os equívocos iniciais e os marcos de referência atuais. **Sci Med**, v. 22, n. 4, p. 216-223, Dez. 2012.
 114. TUNGLAND, B. C.; MEYER, D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. **Compr Rev Food Sci Food Saf**, v. 1, n. 3, p. 73-92, 2002.
 115. VESTER BOLER, B. M.; HERNOT, D. C.; BOILEAU, T. W.; BAUER, L. L.; MIDDELBOS, I. S.; MURPHY, M. R.; FAHEY, G. C. Carbohydrates blended with polydextrose lower gas production and short-chain fatty acid production in an in vitro system. **Nutr Res**, v. 29, n. 9, p. 631-639, 2009.
 116. WANG, W.; LI, Y. F.; SUN, X. W.; CHEN, Y. B.; LI, W.; XU, D. Z.; GUAN, X. X.; HUANG, C. Y.; ZHAN, Y. Q.; ZHOU, Z. W. Prognosis of 980 patients with

- gastric cancer after surgical resection. **Chin J Cancer**, v. 29, n. 11, p. 923-30, 2010.
117. WANG, Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology. **Food Res Int**, v. 42, n. 1, p. 8-12, Jan. 2009.
118. WAYNFORTH, H. B. **Experimental and Surgical Technique in the Rat**. 2 ed. London: Academic Press, 1980.
119. WEAVER, C. M.; MARTIN, B. R.; NAKATSU, C. H., et al. Galactooligosaccharides improve mineral absorption and bone properties in growing rats through gut fermentation. **J Agric Food Chem**, v. 59, p. 6501–6510, 2011.
120. WEISSTAUB, A. R.; ABDALA, V.; MACARENA, G. C.; MANDALUNIS, P.; ZULETA, A.; ZENI, S. "Polydextrose Enhances Calcium Absorption and Bone Retention in Ovariectomized Rats." **Int J Food Sci**, v. 2013, 8 pages, 2013.
121. WHISNER, C.; MARTIN, B.; NAKATSU, C.; McCABE, G.; PEACOCK, M.; & WEAVER, C. Soluble maize fibre affects short-term calcium absorption in adolescent boys and girls: A randomized controlled trial using dual table isotopic tracers. **Br J Nutr**, v. 112, n. 3, p. 446-456. 2014.
122. WHISNER, C. M.; WEAVER, C. M. Prebiotics and Bone. **Adv Exp Med Biol**, v. 1033, p. 201-204, 2017.
123. WYSOCKI, A.; BUDZYNSKI, P.; KULAWIK, J.; DROZDZ, W. Changes in the localization of perforated peptic ulcer and its relation to gender and age of the patients throughout the last 45 years. **World J Surg**, v. 35, n. 4, p. 811- 6. 2011.
124. XIONG, J.-J.; ALTAF, J. M. A.; NUNES, Q. M.; HUANG, W.; MAI, G.; TAN, C. L.; MUKHERJEE, R.; SUTTON, R.; HU, W. M.; LIU, X. B. Roux-en-Y versus Billroth I reconstruction after distal gastrectomy for gastric cancer: a meta-analysis. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 7, p. 1124, 2013.
125. ZHANG, H.; DIBASE, J. K.; ZUCCOLO, A.; KUDMA, D.; BRAIDOTTI, M.; YU, Y.; PARAMERWARAN, P.; CROWELL, M. D.; WING, R.; RITTMANN, B. E.; KRAIMALNIK-BROWN, R. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. **Proceedings of the national academy of sciences of the united states of America**, v.106, n.7, p.2365-2370, Feb. 2009.

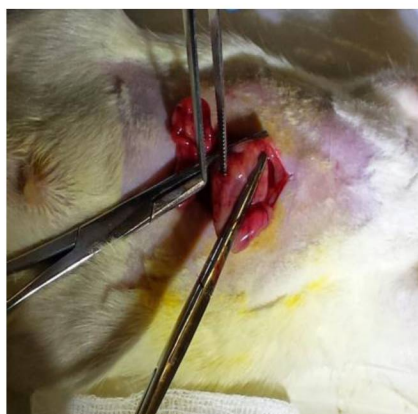
APÊNDICE I PROCEDIMENTOS REALIZADOS DURANTE A GASTRECTOMIA A BILLROTH II COM VAGOTOMIA TRONCULAR ANTERIOR

FIGURA 6. IDENTIFICAÇÃO DO ESTÔMAGO DO ANIMAL E DA SUA VASCULARIZAÇÃO NA PEQUENA E GRANDE CURVATURA



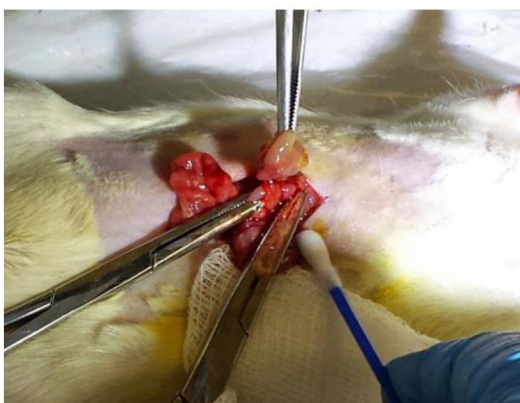
FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 7. COLOCAÇÃO DE PINÇAS KELLY RETA SOBRE O PILORO E O ESTÔMAGO, PARA ISOLAMENTO DA PARTE A SER RETIRADA



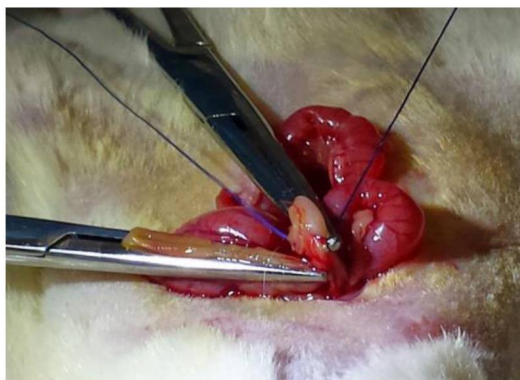
FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 8. RESSECÇÃO DA ÁREA CORRESPONDENTE AO ANTRO DO ANIMAL, COMPLETANDO ASSIM A GASTRECTOMIA



FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 9. FECHAMENTO DO COTO DUODENAL, UTILIZANDO FIO POLIPROPILENO Nº 4.0



FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 10. IDENTIFICAÇÃO DE PRIMEIRA ALÇA INTESTINAL A CERCA DE 5 CM DO LIGAMENTO DE TREITZ E ABERTURA DA ALÇA, DE CERCA DE 1 CM DE EXTENSÃO, NO BORDO CONTRAMESENTERIAL, COM AUXÍLIO DE TESOURA



FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 11. GASTROENTEROANASTOMOSE TÉRMINO-LATERAL (ESTÔMAGO/JEJUNO)



FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 12. REALIZADA A GASTROENTEROANASTOMOSE TÉRMINO-LATERAL NO SENTIDO ISOPERISTÁLTICO DA ALÇA INTESTINAL, UTILIZANDO FIO DE POLIPROPILENO Nº 4.0, COM SUTURA CONTÍNUA E PONTOS EXTRAMUCOSOS



FONTE: O AUTOR, 2015.

FIGURA 13. FECHAMENTO DA PAREDE ABDOMINAL UTILIZANDO SUTURA CONTÍNUA DE FIO DE ALGODÃO COM POLIÉSTER 3.0 E EM SEGUIDA FECHAMENTO DA PELE COM PONTOS INTRADÉRMICOS COM ESTE MESMO FIO



FONTE: O AUTOR, 2015.

ANEXO I APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFMS



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 640/2014 da Pesquisadora **Elisvânia Freitas dos Santos**, referente ao projeto de pesquisa "Efeito da suplementação de povidexose no metabolismo de ferro em ratos gastrectomizados", está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião ordinária do dia 30 de janeiro de 2015.


Joice Stein

Vice-coordenadora da CEUA/UFMS

Campo Grande, 30 de janeiro de 2015.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
fone (67) 3345-7186

ANEXO II INCLUSÃO AO PROJETO APROVADO ORIGINAL APROVADO PELA FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA

Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

Setor de Ciências da Saúde – SES/G
Departamento de Nutrição – DENUT/G

Guarapuava, 13/05/2018


À
PPG Medicina Interna e Ciências da Saúde,

Venho por meio desta, informar que a Profª Ms. Silvana Franco está inserida na execução do projeto “Efeito da suplementação de polidextrose no metabolismo de ferro em ratos gastrectomizados”, que foi aprovado no Programa de Infraestrutura para Jovens Pesquisadores/Programa Primeiros Projetos PPP (Parceria Fundação Araucária/CNPQ), protocolo de número 24639.

A referida professora também participará das atividades do projeto aprovado no Programa de Fluxo Contínuo para Apoio a Projetos Especiais (Fundação Araucária), protocolo de número 34973, ambos com aprovação.

O projeto em que a professora Silvana Franco se propõe a executar neste Programa de Doutorado teve aprovação pelo Comitê de Ética em Uso de Animais nº640/2014/CEUA/UFMS.

Atenciosamente,



Prof.ª Dr.ª Daiana Novello
Coordenadora dos Projetos
CPF: 937.205.130.68

Home Page: <http://www.unicentro.br>

Campus Santa Cruz: Rua Pres. Zacarias 875 – Cx. Postal 3010 – Fone: (42) 3621-1000 – FAX: (42) 3621-1090 – CEP 85.015-400 – GUARAPUAVA – PR
Campus CEDETEG: Rua Simão Camargo Varela de Sá, 92 – Fone/FAX: (42) 3629-8100 – CEP 85.040-080 – GUARAPUAVA – PR

